

11

Cadeia de Transporte de Elétrons e Fosforilação Oxidativa

11.1 OXIDAÇÃO DE COENZIMAS E SÍNTESE DE ATP

Os processos de oxidação da glicose, de aminoácidos e de ácidos graxos levam à produção de acetil-CoA que, no ciclo de Krebs, é totalmente oxidada a CO_2 . O ciclo de Krebs constitui, portanto, o estágio final e máximo de oxidação dos átomos de carbono que compõem os carboidratos, proteínas e lipídios. A oxidação destes compostos é acompanhada da redução de grande quantidade das coenzimas NAD^+ e FAD . Para exemplificar, está apresentado a seguir o cômputo do número de mols destas coenzimas reduzidas durante a oxidação de um mol de glicose:

Etapa/Reação	Mols de NADH	Mols de FADH_2
Glicólise		
Gliceraldeído 3-fosfato \rightarrow 1,3-Bisfosfoglicerato	2	-
Piruvato \rightarrow Acetil-CoA	2	-
Ciclo de Krebs		
Isocitrato \rightarrow α -Cetoglutarato	2	-
α -Cetoglutarato \rightarrow Succinil-CoA	2	-
Succinato \rightarrow Fumarato	-	2
Malato \rightarrow Oxaloacetato	2	-
Total	10	2

Concomitantemente, há produção de 4 mols de ATP: 2 mols de saldo da glicólise e 2 mols produzidos como GTP no ciclo de Krebs. Do ponto de vista energético, verifica-se, então, que da energia total disponível na molécula de glicose, uma fração muito pequena levou à produção de ATP; a maior parte foi conservada nas coenzimas reduzidas. Este fenômeno repete-se na oxidação de aminoácidos e lipídios: há uma pequena síntese direta de ATP ao longo das reações de sua degradação, mas a maior parte da energia disponível é armazenada em coenzimas reduzidas. Estas coenzimas

podem ser reoxidadas por duas razões. Primeiramente, para que, voltando à forma oxidada, possam participar outra vez das vias de degradação dos nutrientes. Em segundo lugar, é a partir da oxidação destas coenzimas que a energia conservada pode ser empregada pelas células para sintetizar ATP. As células aeróbias produzem a maior parte do seu ATP por oxidação das coenzimas pelo oxigênio (a chamada "respiração celular"), efetuada por uma *cadeia de transporte de elétrons* ("cadeia respiratória"), à qual está intimamente associada a *síntese de ATP*. Esta síntese consiste na fosforilação do ADP ($\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP}$) e, por utilizar a energia derivada da oxidação das coenzimas, é denominada *fosforilação oxidativa*.

A oxidação de coenzimas libera grande quantidade de energia

Nos organismos aeróbios, a oxidação das coenzimas é feita por transferência de seus elétrons para o oxigênio; recebendo elétrons, o oxigênio liga-se a prótons do meio, formando água. Este processo libera grande quantidade de energia, em virtude da diferença de potenciais de redução (Capítulo 4) entre a coenzima reduzida e o oxigênio, como se viu pelo cálculo a seguir. O potencial de redução de NAD^+/NADH vale $-0,32 \text{ V}$ e o potencial de $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ vale $0,82 \text{ V}$. Usando a expressão

$$\Delta G^{\circ'} = -n\mathcal{F} \Delta E^{\circ'}$$

é possível calcular o valor de $\Delta G^{\circ'}$ para a transferência de 2 elétrons do NADH para o oxigênio:

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= -2 \times 96,5 \times [0,82 - (-0,32)] \\ \Delta G^{\circ'} &= -220 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

O valor encontrado é bastante alto quando comparado ao valor de $\Delta G^{\circ'}$ da síntese de ATP, $31 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Em outras palavras, do ponto de vista meramente quantitativo, a energia liberada na oxidação de um mol de NADH permite a produção de alguns mols de ATP. A questão fundamental, entretanto, é: como aproveitar esta energia? Se a transferência de elétrons das coenzimas reduzidas fosse feita diretamente para o oxigênio, toda a energia do processo seria liberada como calor, portanto, inutilizável pelas células para promover os processos que requerem energia. Vale lembrar que a forma de energia utilizável pelas células para tais processos é a energia química presente no ATP.

A estratégia adotada pelas células consiste em transformar a energia contida nas coenzimas reduzidas em um *gradiente de prótons* e utilizar este gradiente para promover a síntese de ATP. A energia para gerar o gradiente de prótons é conseguida pela transferência dos elétrons das coenzimas para o oxigênio, não diretamente, mas via passagens intermediárias por vários compostos, que constituem uma *cadeia de transporte de elétrons*. Para cumprir esta função, os compostos que formam a cadeia são organizados de acordo com seus potenciais de redução. Assim, os elétrons partem da coenzima reduzida, que tem potencial de redução menor que os componentes da cadeia, e percorrem uma seqüência de transportadores com potenciais de redução crescentes, até atingirem o oxigênio, que tem o maior potencial de redução. As transferências de elétrons entre estes compostos são sempre, portanto, acompanhadas de queda de energia (ver equação anterior). O transporte de elétrons é facilitado pelo fato de tais compostos estarem organizados em membranas, com posições definidas, de modo a situar cada componente exatamente entre aquele que lhe fornecerá elétrons e aquele ao qual seus elétrons serão doados. Ao mesmo tempo em que as passagens de elétrons se processam, estabelece-se um *gradiente de prótons*, ou seja, estabelece-se uma concentração de prótons diferente de cada lado da membrana onde ocorre o transporte de elétrons. É o aproveitamento da energia potencial contida no gradiente de prótons que torna possível a síntese de ATP.

11.2 CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS MITOCONDRIAL

Os transportadores de elétrons estão agrupados em 4 complexos

A oxidação das coenzimas reduzidas processa-se na membrana interna da mitocôndria, da qual fazem parte os componentes da cadeia de transporte de elétrons. A maioria destes componentes agrupa-se em quatro complexos, designados I, II, III e IV, que atravessam a membrana interna. Cada complexo é constituído por diversas subunidades proteicas associadas a grupos prostéticos diferentes: FMN, FAD, centros ferro-enxofre, grupos heme (presentes nos citocromos) e cobre. Estes componentes organizam-se em ordem crescente de potenciais de redução (Tabela 11.1). Sem fazer parte dos complexos, aparecem ainda dois componentes móveis da cadeia de transporte de elétrons: a coenzima Q (CoQ), que conecta os Complexos I e II ao Complexo III, e o citocromo *c*, que conecta o Complexo III ao Complexo IV.

Tabela 11.1 Potenciais de redução padrão (E°) dos componentes da cadeia de transporte de elétrons

Par oxidado/reduzido	E° (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.

A posição dos transportadores de elétrons na membrana interna da mitocôndria está esquematizada na Fig. 11.1. Dois elétrons do NADH são transferidos para o Complexo I, do Complexo I para CoQ, depois para o Complexo III, citocromo *c*, Complexo IV e finalmente para o oxigênio. Elétrons presentes no succinato e em outros substratos têm uma entrada especial na cadeia de transporte de elétrons: são transferidos ao Complexo II e deste para CoQ; deste ponto em diante, seguem o caminho comum: Complexo III, citocromo *c*, Complexo IV e oxigênio. Estas transferências são possíveis porque todos os compostos presentes nos complexos, mais a CoQ e o citocromo *c*, podem apresentar-se nos estados reduzido e oxidado — ao receberem um elétron do componente anterior da cadeia, reduzem-se; transferindo o elétron para o componente seguinte, oxidam-se e estão aptos a receber elétrons novamente.

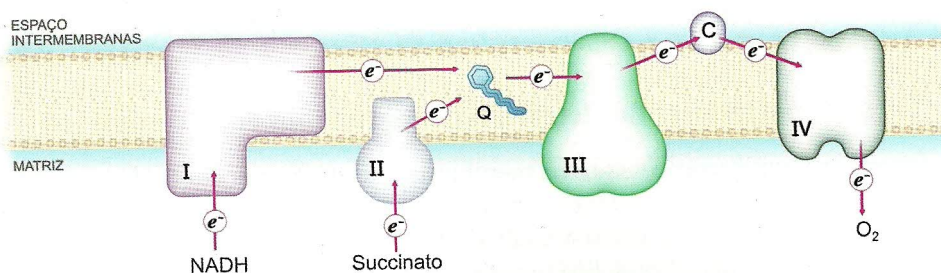


Fig. 11.1 Disposição dos Complexos I, II, III e IV, transportadores de elétrons, na membrana interna da mitocôndria (para maior clareza, o Complexo II foi deslocado de sua posição transmembrana). As setas indicam a trajetória dos elétrons provenientes de NADH ou do succinato até o oxigênio. C: citocromo *c*; Q: coenzima Q.

Em seguida será apresentada a natureza química dos transportadores de elétrons e, mais adiante, a sua organização nos Complexos I a IV. A estrutura tridimensional com grau de resolução atômica dos Complexos II, III e IV é conhecida, mas o exato caminho percorrido pelos elétrons não está completamente elucidado.

Os grupos prostéticos dos complexos atuam como centros de óxido-redução

A flavina mononucleotídeo (FMN), componente do Complexo I, é um derivado da vitamina riboflavina, com estrutura semelhante à do FAD (Seção 9.1), e, como este, capaz de receber 2 prótons e 2 elétrons, passando à forma totalmente reduzida, FMNH₂ (Fig. 11.2). A redução de FMN ocorre em duas etapas: ao receber 1 próton e 1 elétron, converte-se em uma semiquinona, um radical livre que, ao reagir com mais 1 próton e 1 elétron, origina FMNH₂. As proteínas que contêm uma coenzima derivada da riboflavina (FAD ou FMN) são designadas flavoproteínas.

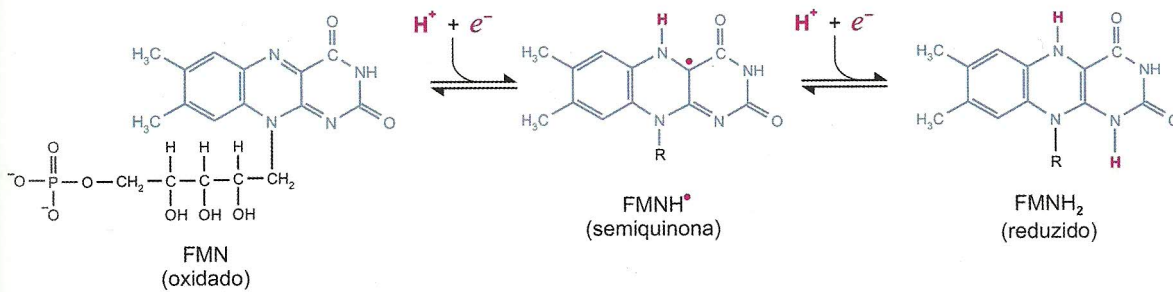


Fig. 11.2 Estruturas da flavina mononucleotídeo. A forma oxidada (FMN) reage com um próton e um elétron, convertendo-se na forma semiquinona (FMNH•); a incorporação de mais um próton e um elétron resulta na forma totalmente reduzida (FMNH₂).

Os centros ferro-enxofre (centros Fe-S), presentes nos Complexos I, II e III, são formados de íons de ferro e de enxofre, podendo apresentar diversas configurações (Fe-S, Fe₂-S₂, Fe₄-S₄ etc.). Estão associados à cadeia polipeptídica por ligação a resíduos de cisteína, mais frequentemente (Fig. 11.3). As proteínas que contêm centros desta natureza são chamadas proteínas ferro-enxofre (ou proteínas com ferro não-hêmico, para indicar que o íon de ferro não faz parte de um grupo heme). Os centros Fe-S não recebem prótons; são transportadores de elétrons unicamente, recebidos e doados pelo íon de ferro, cuja valência alterna entre Fe³⁺ e Fe²⁺.

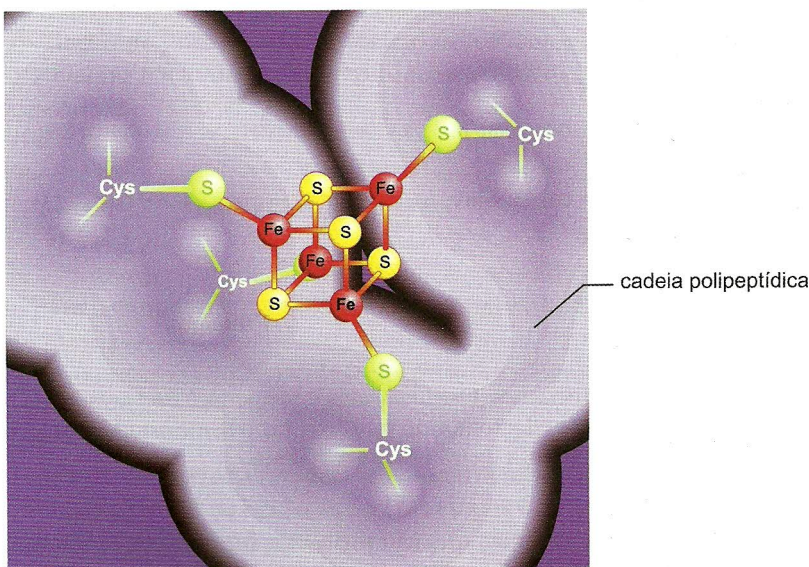


Fig. 11.3 Estrutura de um centro ferro-enxofre do tipo Fe₄-S₄. Os átomos de ferro estão ligados a átomos de enxofre e a resíduos de cisteína da cadeia polipeptídica da proteína ferro-enxofre.

A ubiquinona ou coenzima Q (CoQ ou Q) representa uma família de quinonas que diferem pelo número de unidades isoprênicas presentes em sua cadeia lateral. A forma mais comum encontrada nos mamíferos apresenta 10 dessas unidades. As características hidrofóbicas da ubiquinona permitem sua mobilidade na fase lipídica da membrana, ao contrário dos outros componentes da cadeia de transporte de elétrons, que têm posições relativamente fixas na membrana mitocondrial, com exceção do citocromo *c*. A ubiquinona oxidada (Q) recebe 2 prótons e 2 elétrons, originando a forma reduzida, o ubiquinol (QH₂). A redução, como no caso do FMN, ocorre via uma forma intermediária, que é um radical livre, a semi-ubiquinona, QH• (Fig. 11.4).

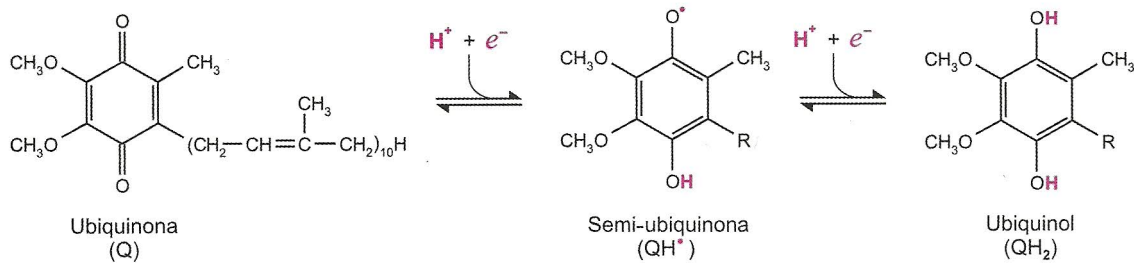


Fig. 11.4 Formas da coenzima Q. A forma oxidada, ubiquinona (Q), origina a semi-ubiquinona (QH•) ao receber um próton e um elétron; a reação com mais um próton e um elétron produz a forma reduzida, ubiquinol (QH₂).

Os citocromos são proteínas transportadoras de elétrons, que contêm heme (Seção 3.2) como grupo prostético. Em células de eucariotos, proteínas deste tipo fazem parte da membrana interna da mitocôndria, das membranas do retículo endoplasmático e da membrana tilacóide dos cloroplastos; em bactérias, localizam-se na membrana plasmática. Em todas essas membranas ocorre transporte de elétrons. O íon de ferro presente no grupo heme é responsável pela capacidade de transferência de elétrons destas proteínas: o íon pode alternar entre os estados de oxidação Fe²⁺ e Fe³⁺.

Os citocromos são classificados em *a*, *b* e *c*, segundo o espectro de absorção que apresentam — os três tipos estão representados na cadeia de transporte de elétrons. Os subtipos de citocromos são caracterizados por um índice que indica, em nanômetros, o pico máximo de absorção; dois exemplos são o citocromo *b*₅₆₂ e o citocromo *b*₅₆₆ do Complexo III. Naturalmente, cada citocromo é constituído por uma cadeia polipeptídica com uma seqüência de aminoácidos que lhe é própria. Os citocromos diferem também quanto aos radicais substituintes do grupo heme e quanto à forma de ligação do heme à cadeia polipeptídica; esta ligação, nos tipos *a* e *b*, é não-covalente e, no tipo *c*, é covalente (tioéter), formada com resíduos de cisteína (Fig. 11.5).

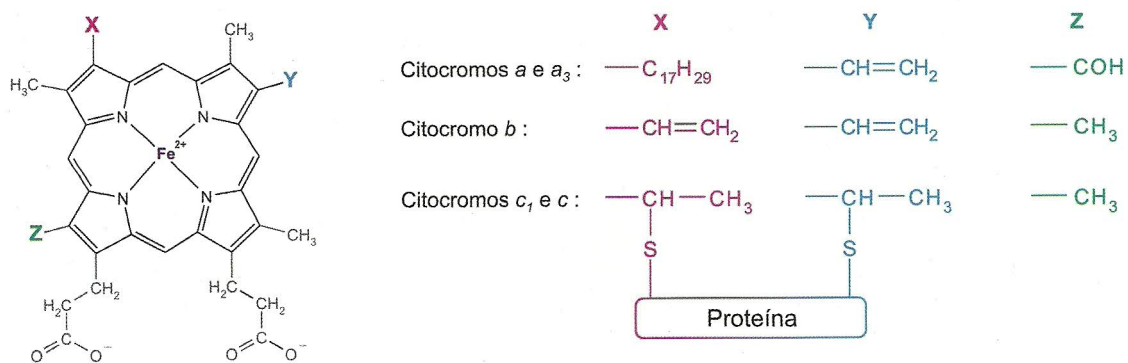


Fig. 11.5 Estrutura dos grupos prostéticos dos citocromos. Os citocromos dos tipos *a*, *b* e *c* apresentam o grupo heme caracterizado pelos substituintes X, Y, Z indicados na figura. Nos citocromos do tipo *c*, o grupo heme estabelece ligações tioéter com resíduos de cisteína da cadeia polipeptídica;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

O citocromo *c*, ao contrário dos outros citocromos, que são proteínas integradas, é uma proteína periférica, situada na face externa da membrana interna da mitocôndria, com a qual estabelece ligações fracas; adicionalmente, é uma proteína relativamente pequena. Seu tamanho e mobilidade permitem-lhe cumprir sua função na cadeia de transporte de elétrons, qual seja, a de conectar o Complexo III, do qual recebe elétrons, ao Complexo IV, ao qual doa elétrons.

O Complexo I oxida o NADH, transferindo seus elétrons para a coenzima Q

O Complexo I, também chamado *NADH-ubiquinona óxido-redutase* (Fig. 11.6), é a primeira enzima da cadeia de transporte de elétrons de muitas bactérias e de mitocôndrias da maioria dos eucariotos. É um dos maiores complexos de membrana conhecidos, constando de 46 cadeias polipeptídicas em mitocôndrias de mamíferos. A estrutura atômica do Complexo I, ao contrário dos outros complexos da cadeia, ainda não foi desvendada; ao microscópio eletrônico, apresenta forma de L — um braço fica integrado na membrana e o outro, periférico, projeta-se na matriz mitocondrial (ou no citoplasma bacteriano). Às cadeias do braço periférico estão associados uma molécula de FMN e até 9 centros Fe-S. A falta de dados a respeito de sua estrutura extremamente complexa tem limitado o entendimento de seu mecanismo de ação.

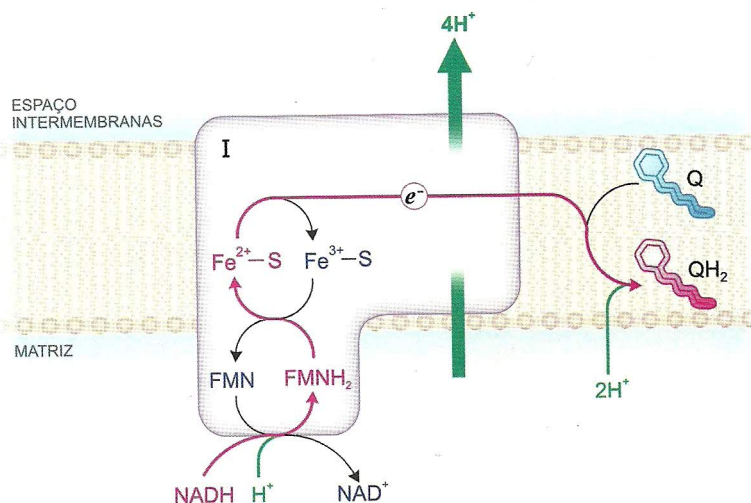
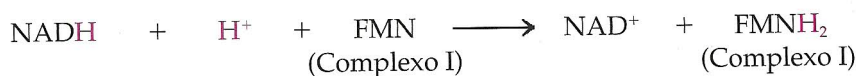


Fig. 11.6 Modelo simplificado das transferências de elétrons através do Complexo I. As setas vermelhas indicam o caminho que percorrem: são doados do NADH ao FMN e, deste, a centros Fe-S (apenas um está representado) para então serem transferidos à coenzima Q. As setas verdes indicam movimentação de prótons, retirados da matriz (setas finas) ou bombeados para fora da mitocôndria (seta grossa).

O doador de elétrons para a redução de FMN, que constitui a primeira transferência de elétrons para a cadeia de transporte de elétrons, é o NADH produzido por várias reações do metabolismo. São exemplos de reações produtoras de NADH as reações de oxidação de gliceraldeído 3-fosfato (glicólise), piruvato (conversão piruvato \rightarrow acetil-CoA), isocitrato, α -cetoglutarato e malato (ciclo de Krebs) e β -hidroxiacil-CoA (ciclo de Lynen), todas catalisadas por desidrogenases. A reação processada é:



O resultado desta etapa é, portanto, a oxidação do NADH e a entrada dos elétrons na membrana interna da mitocôndria, de onde só sairão para serem doados ao oxigênio, no final da cadeia. Note-se que a redução de FMN implica a retirada de um próton da matriz.

Continuando seu percurso, os elétrons do FMNH₂ são transferidos para uma seqüência de centros Fe-S; depois destas passagens, são entregues à coenzima Q, deixando o Complexo I. Novamente, são consumidos prótons da matriz para converter CoQ em CoQH₂.

Neste ponto, deve ser mencionado, novamente, um fenômeno essencial do transporte de elétrons, que é a movimentação concomitante de prótons (discutida na Seção 11.3). Nas etapas da cadeia catalisadas pelos Complexos I e III, esta movimentação parece ser resultante da disposição alternada de transportadores de elétrons e prótons (FMN, CoQ) e transportadores apenas de elétrons, que não aceitam prótons (centros Fe-S, grupos heme). No caso do Complexo I, no processo de transferência de elétrons do FMNH₂ para os centros Fe-S, os prótons são excluídos, sendo deslocados da membrana interna da mitocôndria para o espaço intermembranar. Observa-se aqui, então, a primeira etapa da forma-

ção do gradiente de prótons: da matriz mitocondrial são retirados prótons; no espaço intermembranas são introduzidos prótons. Admite-se atualmente que sejam excluídos 4 prótons para cada NADH oxidado.

Em resumo, o Complexo I catalisa a transferência de elétrons do NADH à ubiquinona e a translocação concomitante de prótons através da membrana. Ou seja, o Complexo I, além de conter os centros de óxido-redução mencionados, atua como uma bomba de prótons, movida pelas reações redox; o acoplamento dos dois processos ainda não é compreendido.

O Complexo II oxida o succinato, transferindo seus elétrons também para a coenzima Q

A succinato desidrogenase, também denominada Complexo II ou *succinato-ubiquinona óxido-redutase* (Fig. 11.7), é um componente tanto do ciclo de Krebs, quanto da cadeia de transporte de elétrons. A enzima acopla a oxidação do succinato a fumarato na matriz mitocondrial, com a redução da coenzima Q na membrana interna da mitocôndria; representa um segundo ponto de entrada de elétrons na cadeia, em direção ao oxigênio.

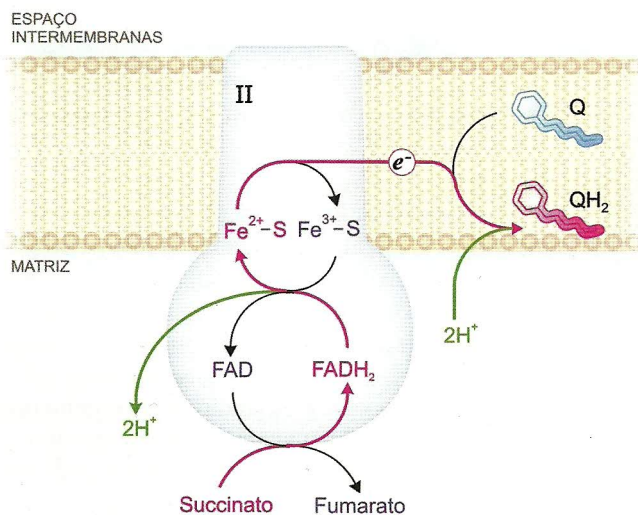


Fig. 11.7 A succinato desidrogenase (Complexo II), que também participa do ciclo de Krebs, catalisa a oxidação do succinato por transferência dos elétrons (setas vermelhas) ao grupo prostético, FAD; a seguir são captados por centros Fe-S (a figura mostra um dos centros) e passados para a coenzima Q. O Complexo II não catalisa a extrusão de prótons.

A succinato desidrogenase, em diversos organismos, é constituída por uma porção esférica, que se projeta para a matriz mitocondrial (para o citoplasma, em bactérias), ligada a um pedúnculo, imerso na membrana. O domínio hidrofílico consta de uma flavoproteína (FAD), que contém o sítio de ligação ao substrato, e de uma proteína ferro-enxofre (três centros Fe-S); a porção hidrofóbica é formada por um citocromo do tipo *b* e uma outra subunidade que apresenta o sítio de ligação com a coenzima Q. Os elétrons e os prótons do succinato são transferidos para o FAD, que se reduz a FADH₂; os elétrons do FADH₂ passam pelos centros Fe-S e, finalmente, são doados à CoQ. Como os centros Fe-S não recebem prótons, os prótons presentes no FADH₂ são devolvidos à matriz mitocondrial. O citocromo *b* não participa da transferência de elétrons, e sua função permanece desconhecida.

O Complexo II *não* contribui para a formação do gradiente de prótons, porque o valor de $\Delta E^{\circ'}$ e, conseqüentemente, o valor de $\Delta G^{\circ'}$ para a transferência de elétrons do succinato à coenzima Q são muito pequenos para promover o bombeamento de prótons para fora da mitocôndria.

A coenzima Q é o ponto de convergência de elétrons provenientes de NADH (Complexo I), succinato (Complexo II), glicerol 3-fosfato e acil-CoA

A coenzima Q, como foi visto, recebe os elétrons provenientes dos Complexos I e II. Adicionalmente, existem outras vias de transferência de elétrons que convergem para a CoQ. Nestas vias, o substrato é oxidado por uma desidrogenase (uma flavoproteína), com redução de FAD a FADH₂; os elétrons, depois de passarem por compostos intermediários, são entregues à CoQ. Exemplos deste tipo de substrato são encontrados no metabolismo de triacilgliceróis (Capítulo 16). Um deles, o glicerol 3-fosfato, origina diidroxiacetona fosfato, por ação da *glicerol 3-fosfato desidrogenase*, localizada na face externa da membrana interna da mitocôndria. Neste caso, os elétrons do substrato passam diretamente

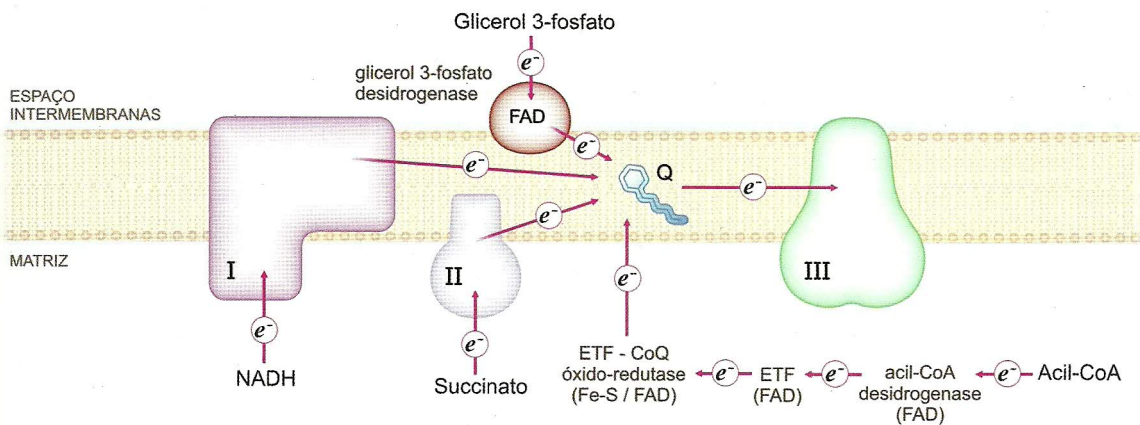


Fig. 11.8 A coenzima Q é o ponto de convergência dos elétrons provenientes do NADH (via Complexo I), do succinato (via Complexo II), do glicerol 3-fosfato e de acil-CoA. ETF: flavoproteína transferidora de elétrons.

O FAD para a coenzima Q. Uma outra via que reduz CoQ inicia-se com a oxidação de acil-CoA (primeira reação da β-oxidação de ácidos graxos), catalisada pela *acil-CoA desidrogenase*, cuja coenzima, FAD, é reduzida. Os elétrons do FADH₂ são transferidos pela ETF (da denominação inglesa para *flavoproteína transferidora de elétrons*) para uma outra flavoproteína, que também contém um centro Fe-S, a *ETF-ubiquinona óxido-reductase*, que, finalmente, doa o par de elétrons para CoQ (Fig. 11.8).

Os elétrons das diferentes procedências descritas percorrem, a partir da coenzima Q, um caminho comum até o oxigênio.

O Complexo III transfere elétrons da Coenzima Q para o citocromo c

O Complexo III, ou *citocromo bc₁* ou *ubiquinona-citocromo c óxido-reductase*, catalisa a transferência de elétrons da ubiquinona ao citocromo c, acompanhada de movimentação de prótons. A enzima de mitocôndrias de mamíferos é formada pela associação de dois monômeros, cada um com 11 subunidades, que incluem os citocromos *b₅₆₂* e *b₅₆₆*, uma proteína Fe-S e o citocromo *c₁*.

O acoplamento do transporte de elétrons à translocação de prótons pelo Complexo III é explicado pelo chamado ciclo Q (Fig. 11.9). De acordo com esta hipótese, a enzima apresenta dois sítios catalíticos distintos: um para a oxidação de QH₂, próximo à superfície externa da membrana, do qual faz parte o citocromo *b₅₆₆*, de menor potencial de redução (Tabela 11.1), e outro para a redução de Q, no lado interno da membrana, que contém o citocromo *b₅₆₂*, com maior potencial de redução. Quando QH₂ é oxidada, dois prótons são liberados no espaço intermembranar (o centro Fe-S e os citocromos recebem apenas elétrons) e quando Q é reduzida, são retirados da matriz. Na reação de oxidação de QH₂, seus elétrons seguem um caminho bifurcado: um elétron é transferido ao centro Fe-S, deste para o citocromo *c₁* e para o citocromo *c*; o segundo elétron é passado, via os citocromos *b*, para a ubiquinona (Q). A semi-ubiquinona (QH•) resultante será totalmente reduzida a QH₂ depois que uma segunda molécula de QH₂ for oxidada.

Para melhor entendimento, o ciclo Q pode ser desmembrado em duas etapas. Na primeira etapa (Fig. 11.9 a), QH₂ perde 1 elétron e 1 próton, formando QH•: o elétron segue a rota QH₂ → Fe-S → *c₁* → *c* e o H⁺ é liberado no espaço intermembranar. A semi-ubiquinona converte-se na forma oxidada, Q, por transferência de seu elétron aos citocromos *b* e por extrusão do próton. Q migra para o sítio catalítico interno (seta pontilhada), onde recebe, de volta, o elétron do citocromo *b₅₆₂* e reage com um H⁺ da matriz, reconstituindo QH•. A transferência de um dos elétrons de QH₂ para o citocromo *c* resulta, portanto, na extrusão de 2 H⁺ e no consumo de um H⁺ da matriz para formar QH•, no sítio catalítico interno.

Na segunda etapa (Fig. 11.9 b), outra molécula de QH₂ percorre a mesma seqüência de reações que na primeira etapa, até a passagem do elétron para os citocromos *b* e formação de Q, que deixa o Complexo III e retorna à bicamada lipídica (seta pontilhada). Na presente etapa, esse elétron é doado do citocromo *b₅₆₂* para a semi-ubiquinona formada na etapa anterior (QH•), e, à custa de um H⁺ do interior da mitocôndria, regenera QH₂. A redução da segunda molécula de citocromo *c* promove a extrusão de mais 2 H⁺, o consumo de um outro H⁺ da matriz, a regeneração da molécula de QH₂ consumida e a produção da forma oxidada, Q, que se torna disponível para receber elétrons dos componentes da cadeia que a antecedem (Complexo I, II etc.).

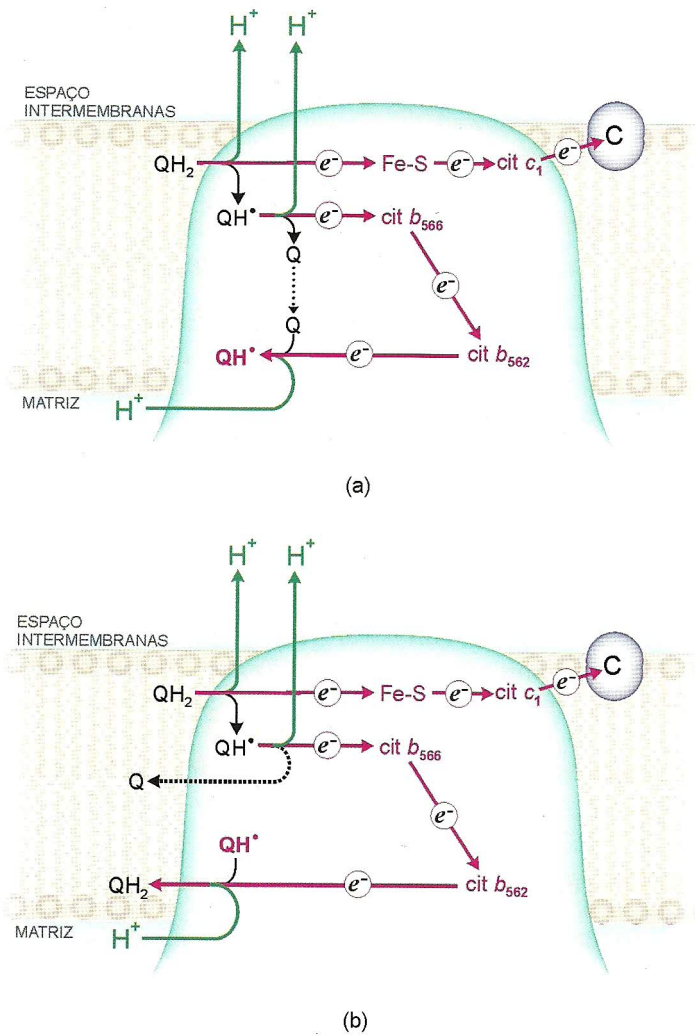


Fig. 11.9 Transporte de elétrons da coenzima Q para o citocromo *c*, catalisado pelo Complexo III: o ciclo Q. Os elétrons de QH₂ são transferidos, um de cada vez, em duas etapas. (a) Primeira etapa: QH₂ → QH•. (b) Segunda etapa: QH₂ → Q e QH• → QH₂, o que equivale a QH• → Q. As setas pontilhadas indicam os deslocamentos da forma Q: em (a), do sítio catalítico mais externo para o sítio mais interno e em (b), do interior do Complexo III para a bicamada lipídica. Dois prótons são consumidos da matriz e quatro bombeados para o espaço intermembranas (setas verdes).

O ciclo Q pode ser assim resumido:

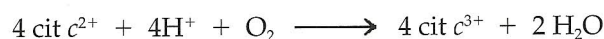
Primeira etapa	Segunda etapa
QH ₂ → QH•	QH ₂ → Q QH• → QH ₂
cit <i>c</i> (Fe ³⁺) → cit <i>c</i> (Fe ²⁺)	cit <i>c</i> (Fe ³⁺) → cit <i>c</i> (Fe ²⁺)
1 H ⁺ matriz → 2 H ⁺ exterior	1 H ⁺ matriz → 2 H ⁺ exterior
<hr/>	
Final: QH ₂ + 2 cit <i>c</i> (Fe ³⁺) + 2 H ⁺ matriz → Q + 2 cit <i>c</i> (Fe ²⁺) + 4 H ⁺ exterior	

Deste modo, o Complexo III, ao oxidar a coenzima Q e reduzir o citocromo *c*, promove a retirada de dois prótons da matriz e o bombeamento de quatro prótons para o exterior da mitocôndria.

O Complexo IV transfere elétrons para o oxigênio

O Complexo IV, ou *citocromo c oxidase*, é a última enzima das cadeias de transporte de elétrons bacterianas e mitocondriais; catalisa a passagem de elétrons do citocromo *c* para o oxigênio, formando água, acoplada ao bombeamento de prótons. Em mitocôndrias de eucariotos, constitui um dímero, sendo que cada monômero contém 13 subunidades proteicas associadas a dois grupos heme, do tipo *a* e *a₃*, e três íons de cobre. Estes íons, que alternam entre os estados de oxidação Cu^{2+} e Cu^{1+} , organizam-se em dois centros denominados Cu_A/Cu_A (com dois íons de cobre) e Cu_B (um íon de cobre). O heme *a₃* e o centro Cu_B são extremamente próximos e formam o centro ativo onde o oxigênio é reduzido a água.

O Complexo IV (Fig. 11.10) catalisa a redução de uma molécula de oxigênio (O_2), que recebe quatro elétrons e liga-se a prótons da matriz convertendo-se em $2 \text{H}_2\text{O}$, e a oxidação concomitante de quatro moléculas de citocromo *c* reduzido:



Acredita-se que esta reação envolva quatro transferências consecutivas de um elétron do citocromo *c* reduzido para o centro Cu_A/Cu_A , depois para o heme *a*, heme *a₃*, centro Cu_B e O_2 . O mecanismo da redução permanece indeterminado. O Complexo IV, além de retirar prótons da matriz mitocondrial para reduzir o oxigênio, bombeia prótons adicionais (talvez quatro) para o espaço intermembranas, contribuindo para o gradiente de prótons. O mecanismo de funcionamento da enzima como uma bomba de prótons movida por reações de óxido-redução ainda é hipotético.

A utilização de oxigênio pelo Complexo IV responde por cerca de 95% de todo o oxigênio consumido pelo organismo humano; a produção de H_2O neste processo chega a cerca de 300 mL diários e é, muitas vezes, referida como *água metabólica*. Em determinadas espécies, esta produção de água é fundamental para a sobrevivência, como nos casos de animais que hibernam ou de camelos, que passam longos períodos sem ingerir água.

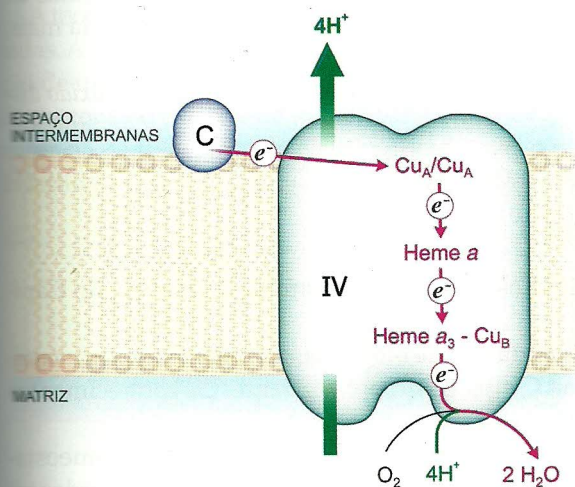


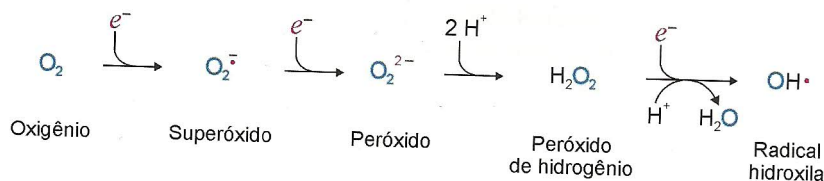
Fig. 11.10 Complexo IV. O caminho percorrido pelos elétrons neste complexo ainda é hipotético. Quatro elétrons provenientes do citocromo *c* seriam recebidos pelo centro Cu_A/Cu_A (contendo dois íons cobre), em seguida transferidos para o heme *a* e depois para o centro catalítico formado pela associação do heme *a₃* ao centro Cu_B (um íon cobre), onde, finalmente, seriam doados ao oxigênio. Este combina-se com prótons da matriz (seta verde fina), reduzindo-se a água. O Complexo IV bombeia prótons para o exterior da mitocôndria (seta verde larga).

A redução parcial do oxigênio gera radicais livres

A transferência de quatro elétrons (e quatro prótons) ao oxigênio produz água. Todavia, a redução parcial do oxigênio, por adição de um elétron de cada vez, gera *radicais livres*¹, que podem causar dano severo às células. Alguns exemplos são o *ânion superóxido* e o *radical hidroxila*. A adição de um elétron ao oxigênio molecular (ver esquema a seguir) origina o íon superóxido, que reage com um elétron e gera o íon peróxido; este protona-se rapidamente, originando

¹Radical livre é uma espécie química capaz de existência independente e que contém um ou mais elétrons não-pareados na orbital externa. Essas espécies, em geral, são extremamente instáveis e altamente reativas; ao reagirem com uma molécula, geram outro radical livre, iniciando uma reação em cadeia. Sua fórmula química é acompanhada de um ponto, representando o elétron não-pareado.

o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é um oxidante potente e, embora não seja um radical livre, pode originar o radical hidroxila, um dos radicais mais reativos.



O íon superóxido, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila são chamados, conjuntamente, de *espécies reativas de oxigênio* (ROS, da denominação inglesa).

A redução do oxigênio a água, catalisada pela citocromo *c* oxidase, apesar de envolver transferências de *um* elétron, ocorre sem que haja liberação de formas parcialmente reduzidas de oxigênio — os intermediários da reação permanecem firmemente ligados ao centro ativo da enzima, até que a água seja produzida. Por outro lado, há fortes evidências de que haja produção de radical superóxido nos Complexos I e III (e, talvez, no Complexo II), por reação da forma semiquinona da coenzima Q ou do FMN com oxigênio. Este processo seria intensificado quando o gradiente eletroquímico torna-se elevado, por falta de ADP (Seção 11.4): a inibição resultante da cadeia de transporte de elétrons acarretaria um aumento da meia-vida de intermediários com elétrons não-pareados, capazes de reduzir O_2 a $\text{O}_2^{\cdot-}$. A cadeia de transporte de elétrons mitocondrial é a maior fonte endógena de espécies reativas de oxigênio.

A formação de espécies reativas de oxigênio acontece ainda nos peroxissomos, no retículo endoplasmático e nas células do sistema imunológico; neste último caso, os radicais livres desempenham função essencial, qual seja, combater infecções bacterianas. Fatores externos ao organismo, como radiação cósmica e poluição ambiental, também podem levar à produção de radicais livres.

As espécies reativas de oxigênio reagem com proteínas e DNA, alterando suas estruturas, e com lipídios, convertendo-os a peróxidos. A peroxidação de lipídios resulta da reação de radicais livres com duplas ligações de moléculas de ácidos graxos componentes de membranas, as quais têm sua organização rompida, causando lise celular. Ainda mais, os peróxidos de lipídios geram outros radicais livres, amplificando o dano a macromoléculas.

As células dispõem de sistemas enzimáticos para a dissipação de radicais livres. A ação conjunta da *superóxido dismutase* (1) e da *catalase* (2), por exemplo, converte superóxido em água:



Outra enzima que catalisa a redução de H_2O_2 e de peróxidos de lipídios é a *glutathiona peroxidase*, descrita no Capítulo 12 (Seção 12.3).

Além de enzimas, os seres humanos contam com a proteção de antioxidantes de baixa massa molar, como as *vitaminas A, C, E* e os *carotenóides*. Em doses elevadas, entretanto, a vitamina C atua como pró-oxidante. Os conhecimentos atuais não permitem recomendar suplementação desses antioxidantes.

Em condições normais do metabolismo celular, os mecanismos de defesa contra radicais livres permitem homeostase. Mas, quando há um aumento na produção dessas espécies, a capacidade protetora das enzimas e dos antioxidantes é ultrapassada, resultando em estresse oxidativo.

Como as espécies reativas de oxigênio reagem indiscriminadamente com uma grande variedade de componentes celulares e causam danos cumulativos, elas têm sido implicadas na etiologia do envelhecimento, de doenças neurodegenerativas (doenças de Parkinson e de Alzheimer), de câncer etc.

11.3 FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

Os componentes da cadeia de transporte de elétrons apresentam-se organizados em ordem crescente de potenciais de redução, desde as coenzimas reduzidas até o oxigênio (ver Tabela 11.1). Desta forma, as transferências de elétrons de um componente para o seguinte constituem reações de óxido-redução termodinamicamente favoráveis. A síntese de ATP ou *fosforilação oxidativa* (de “*fosforilação* de ADP à custa da *oxidação* de coenzimas”), que é endergônica, utiliza a energia liberada por essas reações de óxido-redução. O mecanismo do acoplamento dos dois processos, investigado há cinco décadas, continua inconcluso.

A energia derivada do transporte de elétrons é convertida em uma força próton-motriz

O acoplamento da síntese de ATP ao transporte de elétrons pode ser explicado pela *hipótese quimiosmótica*, proposta por Mitchell em 1961. Segundo esta hipótese, a energia do transporte de elétrons é utilizada para bombear prótons através da membrana interna, que é virtualmente impermeável a prótons, para o exterior da mitocôndria (Fig. 11.11). O transporte de H^+ ocorre contragradiente, sendo, então, um processo endergônico. A movimentação unidirecional é possível por estar acoplada à transferência exergônica de elétrons e graças à disposição assimétrica dos componentes da cadeia de transporte de elétrons em relação às duas faces da membrana interna — esta proposição tem sido considerada desde o início deste capítulo.

A consequência do bombeamento é a produção de um *gradiente de prótons*, isto é, uma concentração diferente de prótons dentro e fora da mitocôndria. Em mitocôndrias isoladas consumindo O_2 ativamente, o pH externo chega a ser uma unidade menor do que o pH da matriz. A face da membrana interna voltada para a matriz fica mais negativa do que a face voltada para o espaço intermembranar, e a diferença de carga elétrica (*gradiente elétrico*) gera um potencial de membrana da ordem de 0,1 a 0,2 V. A energia conservada nesse *gradiente eletroquímico* é chamada de *força próton-motriz* e é constituída, portanto, de dois componentes: o gradiente de pH (concentração de prótons maior no espaço intermembranar) e o gradiente elétrico (a matriz é negativa em relação ao espaço intermembranar).

O retorno dos prótons ao interior da mitocôndria é um processo espontâneo, a favor do gradiente eletroquímico, que libera energia capaz de levar à síntese de ATP. A membrana interna da mitocôndria é impermeável a prótons em toda a sua extensão, *exceto* em sítios específicos, constituídos pelo complexo sintetizador de ATP, a *ATP sintase* (Fig. 11.11) — é somente por este canal que os prótons podem atravessar a membrana, de volta à matriz, e desfazer o gradiente. A ATP sintase catalisa a formação de ATP quando os prótons atravessam a enzima, em direção ao interior da mitocôndria.

A variação de energia livre associada ao transporte de um próton através da membrana interna da mitocôndria pode ser determinada a partir da diferença de pH e do potencial de membrana estabelecidos em mitocôndrias consumindo oxigênio; tais medidas indicam um valor próximo de $20 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Considerando-se que cerca de $50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ são consumidos para a síntese de ATP nas condições intracelulares, teoricamente seria necessária a passagem de três prótons pela ATP sintase para cada ATP sintetizado; todavia, os resultados disponíveis indicam quatro prótons.

A teoria quimiosmótica vem sendo consubstanciada por evidências experimentais, algumas das quais são aqui apresentadas. A fosforilação oxidativa só se processa em mitocôndrias intactas ou em vesículas fechadas, compatíveis com a formação de um gradiente de prótons. Medidas de concentração de prótons durante o transporte de elétrons revelam acúmulo de prótons no exterior da mitocôndria ou no interior de vesículas invertidas. A síntese de ATP pode ser obtida mesmo na ausência de transporte de elétrons, desde que exista o gradiente de prótons. Esta verificação é feita pelo uso de vesículas invertidas. Quando se adiciona álcali ao meio de suspensão destas vesículas, a concentração de H^+ diminui subitamente;

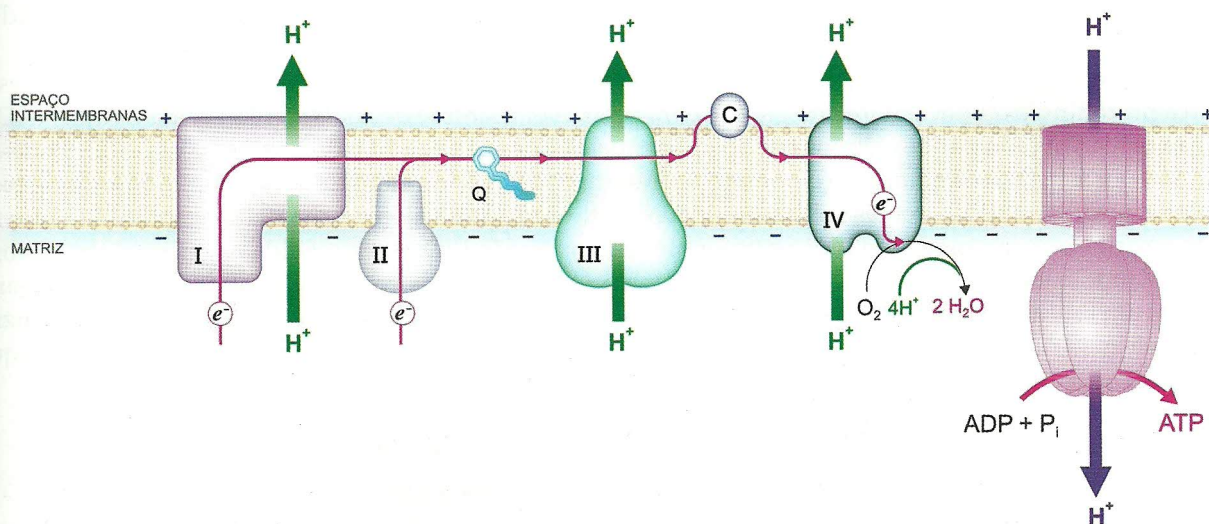


Fig. 11.11 Esquema mostrando o bombeamento de prótons (setas verdes) da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar pelos Complexos I, III e IV, à custa da energia derivada do transporte de elétrons (setas vermelhas). O gradiente de prótons (concentração maior de H^+ fora da mitocôndria) e o gradiente elétrico (face interna da membrana interna mais negativa) constituem a força próton-motriz que é utilizada para sintetizar ATP pela ATP sintase, a única via de acesso de prótons para a matriz (seta roxa).

como a concentração interna de H^+ permanece constante, é gerado momentaneamente um gradiente de prótons. Há extrusão de prótons pela ATP sintase, acompanhada de síntese de ATP no exterior das vesículas.

É importante assinalar que, apesar dos progressos obtidos nesta área, ainda não estão perfeitamente esclarecidos pontos fundamentais da fosforilação oxidativa.

Duas hipóteses tentam explicar o mecanismo do bombeamento de prótons

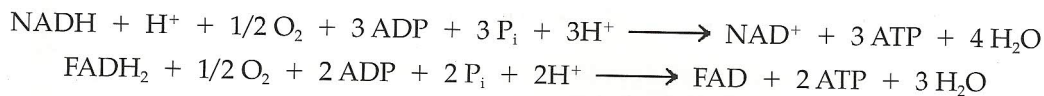
A translocação de prótons através da membrana interna da mitocôndria é feita pelos Complexos I, III e IV. Este fato pôde ser verificado experimentalmente pela utilização de lipossomos (Capítulo 7), aos quais foram incorporados isoladamente cada um desses complexos. Nestes experimentos foi possível demonstrar que transferências de elétrons envolvendo cada um desses complexos são acompanhadas de deslocamento de prótons através da membrana das vesículas e que, portanto, são esses complexos as bombas de prótons geradoras do gradiente. Entretanto, o exato mecanismo do bombeamento de prótons ainda é objeto de controvérsia.

Um dos modelos existentes, do *acoplamento direto*, propõe que os transportadores de elétrons são diretamente envolvidos na translocação de prótons: alguns transportadores de elétrons, ao serem reduzidos, captam prótons da matriz mitocondrial e, ao transferirem elétrons para o componente seguinte da cadeia, liberam prótons no espaço intermembranas. Ou seja, a bomba de prótons e o centro de óxido-redução constituem uma entidade única, cujo estado de óxido-redução induz protonação ou desprotonação. Esta possibilidade é consistente com o bombeamento de prótons pelos Complexos I e III, como já apontado neste texto. Em contrapartida, parece pouco apropriado para o Complexo IV, que não dispõe de componentes que apresentem prótons no estado reduzido (o Complexo IV é formado de citocromos e íons cobre, transportadores apenas de elétrons).

Outra hipótese explicativa postula o *acoplamento indireto*, segundo o qual o centro redox e o módulo que bombeia prótons são distintos e distantes um do outro. A transdução de energia ocorre via mudanças conformacionais: os complexos transportadores de elétrons assumem configurações diferentes nos estados oxidado e reduzido. Ao ligar-se a elétrons, a proteína transportadora sofreria alterações estruturais que provocariam redução do valor de pK_a de grupos ionizáveis de seus aminoácidos (fenômeno análogo às alterações de pK_a de cadeias laterais de aminoácidos da hemoglobina decorrentes das mudanças estruturais desencadeadas por sua ligação com oxigênio — efeito Bohr, Capítulo 3) e também mudança na localização destes grupos. Assim, quando expostas na face interna da membrana, as cadeias laterais se ligam a prótons; após a transferência de elétrons, há uma diminuição do valor de seus pK_a e as cadeias laterais passam a ficar expostas na face externa da membrana, liberando prótons para o espaço intermembranas. Exemplos deste tipo de bomba de prótons já estão descritos para o Complexo IV de alguns organismos.

Os dois modelos propostos pressupõem a existência de canais para a migração de prótons na estrutura dos complexos que atuam como bombas de prótons. Estes canais seriam formados por cadeias laterais de aminoácidos hidrofílicos, além de moléculas de água associadas por pontes de hidrogênio, em uma disposição espacial adequada. Tais estruturas proporcionariam um movimento direcionado de prótons, ao serem transferidos ao longo dos resíduos de aminoácidos.

A variação de energia livre associada à transferência de elétrons através de cada um dos três complexos corresponde a uma força próton-motriz suficientemente grande para promover a síntese de ATP (Fig. 11.12). Para cada NADH que se oxida, ou seja, para cada par de elétrons transportados pelos Complexos I, III e IV, há síntese de 3 ATP. Pode-se chegar a esta mesma conclusão medindo-se o número de moléculas de ATP formadas e o número de átomos de oxigênio consumidos na oxidação de diferentes substratos; o quociente entre estes valores é chamado *razão P/O* — entre *phosphate* (em inglês) incorporado em ATP e *oxigênio* utilizado. A razão P/O é uma medida da eficiência da fosforilação oxidativa. Quando o substrato é o NADH, cujos elétrons passam pelos três complexos enzimáticos até chegarem ao oxigênio, a razão P/O é 3; no caso do succinato, os elétrons são transferidos para o FAD e, a seguir, para a coenzima Q, como o complexo I é “saltado”, o gradiente de prótons formado é menor e a razão P/O do succinato é 2. As equações respectivas de oxidação são as seguintes:



Na verdade, os valores da razão P/O para NADH (3) e succinato (2), aceitos durante muito tempo, têm sido revisados. Diversos trabalhos indicam números menores, em torno de 2,5 e 1,5, respectivamente. Como a questão ainda está longe de ser esclarecida e como os valores de produção de ATP servem principalmente para comparações, neste texto serão adotados sempre os primeiros dados.

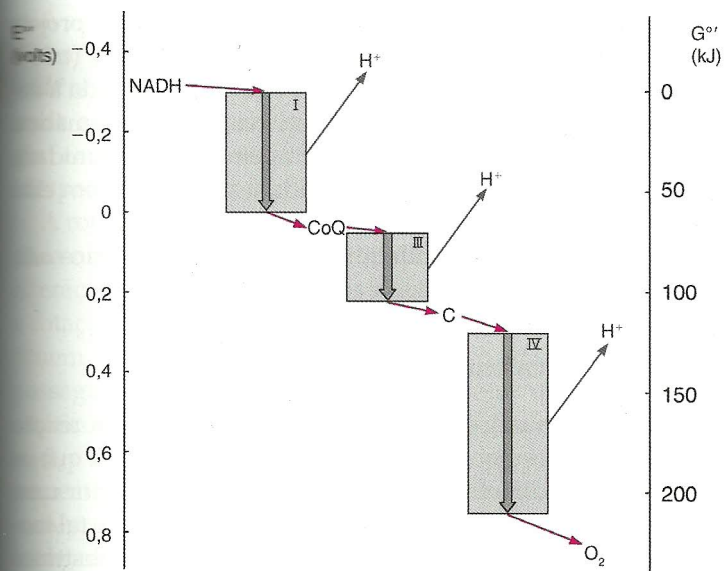


Fig. 11.12 Diagrama mostrando o potencial de redução padrão (E°) dos transportadores de elétrons. A variação de energia livre padrão (ΔG°) associada ao transporte dos elétrons do NADH ao oxigênio pode ser calculada a partir da ordenada à direita (G°). Nas etapas de que participam os Complexos I, III e IV, o decréscimo de energia livre (setas largas) é suficiente para gerar um gradiente de prótons capaz de promover a síntese de ATP.

A ATP sintase é formada por dois componentes, F_1 e F_0

Em micrografias eletrônicas, pode-se observar que a face interna da membrana interna da mitocôndria é recoberta por microesferas, ligadas à membrana por pequenas hastes. O tratamento de preparações de mitocôndrias com ultra-som produz fragmentos de membrana que formam, espontaneamente, *vesículas invertidas*, nas quais a face com as microesferas situa-se do lado de fora (Fig. 11.13). Estas vesículas são capazes de efetuar o transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa. Se as microesferas forem removidas das vesículas, estas conservam apenas a capacidade de transportar elétrons. Por outro lado, as microesferas isoladas contêm a atividade catalítica de síntese que, nestas condições, sem o gradiente de prótons, é demonstrada pela capacidade de promover a reação no sentido da hidrólise de ATP. Estas experiências demonstram a localização da ATP sintase (na realidade, de parte da enzima) nas microesferas.

Nos organismos até então analisados, a ATP sintase compreende dois componentes, cada um constituído por várias subunidades proteicas. Uma porção periférica, chamada *fator de acoplamento 1* (F_1), corresponde às microesferas e suas hastes, visíveis ao microscópio eletrônico. A segunda porção fica embebida na membrana — plasmática de bactérias, tilacóide de cloroplastos (Capítulo 15) e interna de mitocôndrias — e é chamada F_0 , com a letra *o* subscrita, porque inclui, em mitocôndrias, uma subunidade que se liga à *oligomicina*, um inibidor da ATP sintase.

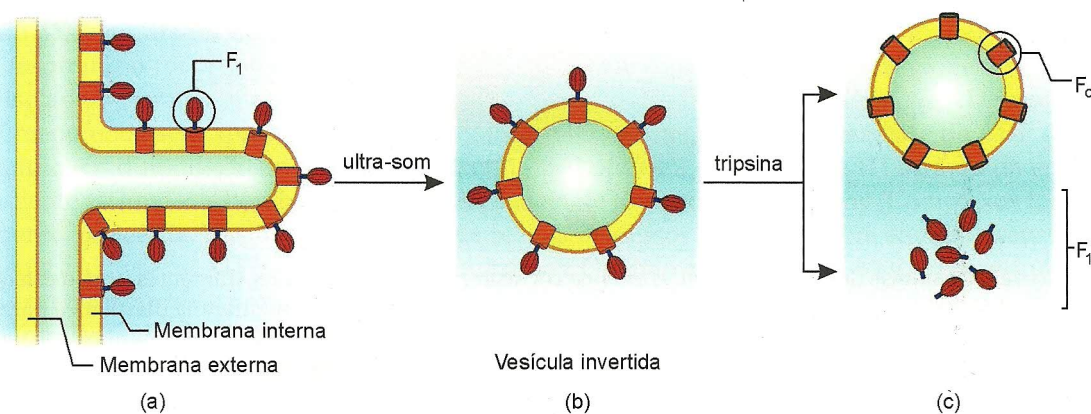


Fig. 11.13 Microesferas da membrana interna da mitocôndria e a ATP sintase. (a) A membrana interna é recoberta por microesferas com pedúnculos, voltadas para a matriz mitocondrial — o esquema mostra uma das numerosas invaginações desta membrana, chamadas *cristas*. (b) Formação de vesículas invertidas por tratamento de mitocôndrias com ultra-som. (c) As microesferas, formadas pelo componente F_1 da ATP sintase, podem ser removidas por diversos tratamentos, por exemplo, com tripsina, e mantêm sua atividade catalítica; as vesículas contêm o componente F_0 da ATP sintase.

A Fig. 11.14 mostra o modelo aceito atualmente para a estrutura da ATP sintase de *Escherichia coli*. F_1 , que se projeta para o citoplasma da célula bacteriana, é formado pelas subunidades $\alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \epsilon$; as seis subunidades maiores (três α e três β) dispõem-se, alternadamente, em um círculo ao redor da subunidade γ , que, por sua vez, está associada à subunidade ϵ ; o hexâmero $\alpha_3-\beta_3$ estabelece contato também com a subunidade δ . F_0 , inserido na membrana plasmática, consta das subunidades $a b_2 c_{10}$; as dez subunidades c compõem uma estrutura em anel e interagem com a subunidade a , que se liga ao dímero b_2 . F_1 e F_0 são unidos por um eixo central, constituído pelas subunidades $\gamma-\epsilon$, e por um eixo lateral, com as subunidades $\delta-b_2$.

F_1 catalisa a síntese de ATP por meio de três sítios ativos, um em cada subunidade β , junto a uma interface α/β . F_0 contém os canais de passagem (de entrada e de saída) de prótons.

A ATP sintase converte energia química em mecânica

Como a energia liberada pela passagem de prótons através da ATP sintase é aproveitada para promover a reação entre ADP e P_i continua uma incógnita. A hipótese mais aceita estabelece que a reação ocorre em três etapas e que os três sítios catalíticos de F_1 podem apresentar-se em três conformações diferentes — cada etapa é cumprida por uma conformação específica. Durante a catálise, cada um dos sítios assume, seqüencialmente, uma configuração, de tal modo que, em um dado instante, etapas diferentes estão ocorrendo nos três sítios. As etapas seriam: ligação dos substratos (ADP e P_i), formação da ligação fosfoanidrido e liberação do ATP sintetizado.

A energia fornecida pela movimentação de prótons a favor do gradiente provoca as mudanças conformacionais dos sítios catalíticos. A seqüência, ainda hipotética, dos eventos é descrita a seguir e na Fig. 11.14.

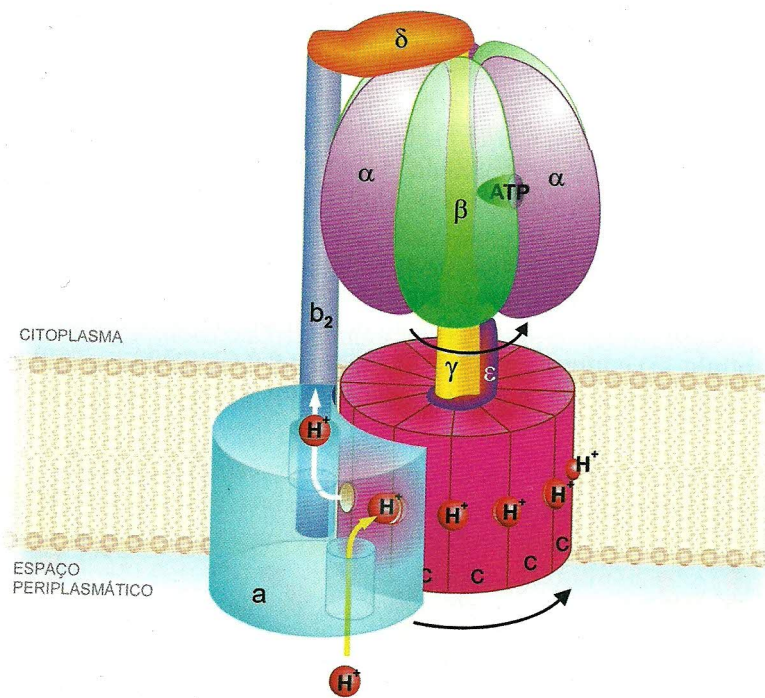


Fig. 11.14 Modelo da ATP sintase de *Escherichia coli*. A enzima consiste em oito subunidades diferentes, com a estequiometria $\alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \epsilon a b_2 c_{10}$. $F_1 = \alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \epsilon$; $F_0 = a b_2 c_{10}$. A porção F_1 estende-se da superfície interna da membrana plasmática para o citoplasma e F_0 fica incluído na membrana. A maior parte da subunidade γ fica inserida na cavidade central do conjunto $\alpha_3-\beta_3$; sua extremidade próxima à membrana interage com ϵ e o anel de subunidades c — o conjunto $\gamma-\epsilon-c_{10}$ atua como rotor. A subunidade δ associa-se com o hexâmero $\alpha_3-\beta_3$ e o dímero b_2 , e este liga-se à subunidade a — o conjunto $\alpha_3-\beta_3-\delta-b_2-a$ é o estator. A subunidade a contém os canais de entrada (seta amarela) e de saída (seta branca) de prótons, situados, respectivamente, na superfície externa (voltada para o espaço periplasmático) e interna (em contato com o citoplasma) da membrana plasmática. Eles ganham acesso ao canal de entrada, ligam-se às subunidades c , provocando a sua rotação, e, após um giro completo, são liberados no citoplasma através do canal de saída de prótons. A rotação de c_{10} faz girar a subunidade γ no centro de $\alpha_3-\beta_3$, o que causa as mudanças conformacionais dos sítios catalíticos, necessárias à síntese de ATP (apenas um dos três sítios está representado). A figura é baseada em Hutcheon ML et al: *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (15):8519-8524, 2001.

A subunidade *a* contém, na interface com as subunidades *c*, dois canais de passagem de prótons, cada um acessível de um lado diferente da membrana — o *canal de entrada* no lado externo, periplasmático², da membrana e o *canal de saída* no lado interno, citoplasmático, da membrana. Para atravessar a membrana, os prótons penetram no canal de entrada e ligam-se a cadeias laterais de aminoácidos (protonação) das subunidades *c*, fazendo girar o anel *c*₁₀. Após um giro completo, que resulta no retorno à interface *a/c* e no alinhamento com o canal de saída, os prótons são liberados (desprotonação) no citoplasma.

A rotação do anel *c*₁₀ movimenta as subunidades γ e ϵ , que são associadas ao anel. Como a subunidade γ fica encaixada no centro da estrutura globular $\alpha_3\text{-}\beta_3$, ao girar ela interage, sucessivamente, com as subunidades β , causando as alterações de conformação dos sítios catalíticos. Assim, a rotação do anel *c*₁₀ em relação à subunidade *a* em *F*₀ determina a rotação de γ em relação ao hexâmero $\alpha_3\text{-}\beta_3$ em *F*₁. Em analogia a uma máquina motriz, as subunidades $\gamma\text{-}\epsilon\text{-}c_{10}$ constituem o *rotor*, e o conjunto $\alpha_3\text{-}\beta_3\text{-}\delta\text{-}b_2\text{-}a$, o *estator* (a parte de um motor que não gira durante o seu funcionamento). A passagem de prótons por *F*₀ faz girar o rotor, que se move em relação às subunidades estacionárias. O eixo $\delta\text{-}b_2$ mantém estáticos: o hexâmero $\alpha_3\text{-}\beta_3$, enquanto γ gira dentro dele, e a subunidade *a*, enquanto o anel *c*₁₀ roda, impedindo que $\alpha_3\text{-}\beta_3$ e *a* girem junto com o rotor. A movimentação do rotor em relação ao conjunto $\alpha_3\text{-}\beta_3$ e à subunidade *a* determina, respectivamente, a ativação dos sítios catalíticos e o transporte de prótons.

A prova decisiva sobre o funcionamento da ATP sintase foi obtida por visualização direta da rotação de uma única molécula de enzima. O movimento pôde ser filmado ao microscópio graças a um filamento fluorescente de actina ligado à subunidade γ , que funcionava como marcador.

Embora os princípios básicos desta hipótese continuem válidos, ela vem sofrendo modificações, frente a novas descobertas. Restam ainda muitas dúvidas sobre os mecanismos da translocação de prótons, das mudanças estruturais dos sítios catalíticos (que parecem ser em número maior do que três) e do acoplamento destes processos. Todavia, há um consenso de que a energia do gradiente de prótons, liberada pela passagem dos H^+ através de *F*₀, é mecanicamente transferida ao módulo catalítico ($\alpha_3\text{-}\beta_3$), via o rotor $\gamma\text{-}\epsilon\text{-}c_{10}$, e que o movimento de rotação causa as mudanças cíclicas dos sítios ativos. Em outras palavras, a ATP sintase converte energia química em mecânica, atuando como um “nanomotor” rotatório.

11.4 ACOPLAMENTO DO TRANSPORTE DE ELÉTRONS À SÍNTESE DE ATP: CONTROLE RESPIRATÓRIO

As velocidades do transporte de elétrons e da síntese de ATP são reguladas pela concentração de ADP

As necessidades celulares de ATP variam grandemente segundo o estado fisiológico. Durante a contração de músculos esqueléticos, por exemplo, a velocidade de utilização de ATP pode ser aumentada de 100 vezes em segundos. O ajuste da produção de ATP ao seu gasto é possível porque o transporte de elétrons e a síntese de ATP são processos intimamente acoplados, isto é, só há oxidação de coenzimas (NADH e FADH₂) se houver síntese de ATP, e vice-versa. O mecanismo de coordenação das velocidades do transporte de elétrons e da síntese de ATP chama-se *controle respiratório*.

O controle respiratório foi originalmente definido como a estimulação do consumo de oxigênio (“respiração”) por mitocôndrias isoladas, exercida por adição de ADP, seguida de seu decréscimo, à medida que ADP era convertido em ATP. Este fenômeno pode ser explicado pela teoria quimiosmótica: a maior disponibilidade de ADP estimula a ATP sintase, resultando em diminuição do gradiente eletroquímico graças à passagem de H^+ através da enzima. A diminuição do gradiente estimula as bombas de prótons da cadeia de transporte de elétrons (Complexos I, III e IV), que é, conseqüentemente, acelerada. Assim, quando a célula realiza processos que consomem energia, transformando ATP em ADP, aumenta a síntese de ATP e a oxidação de coenzimas. Quando o consumo de ATP é reduzido, a concentração de ADP é baixa e o transporte de prótons pela ATP sintase diminui, porque a entrada de H^+ na enzima requer ADP — a magnitude do gradiente de H^+ aumenta e passa a impedir a ação das bombas de prótons da cadeia, até que a energia necessária para bombear prótons para fora da mitocôndria, contragradiente, se iguale à energia liberada pelo transporte de elétrons, que, então, pára.

Ainda mais, a velocidade das vias que produzem coenzimas reduzidas (ciclo de Krebs, oxidação de ácidos graxos etc.) e dependem de sua oxidação pela cadeia de transporte de elétrons é também regulada pela disponibilidade de ADP.

²O espaço periplasmático, ou *periplasma*, localiza-se entre a membrana plasmática e a membrana externa de bactérias gram-negativas, como *E. coli*.

Dados recentes, obtidos por experimentação *in vivo*, indicam que o controle respiratório é muito mais complexo do que verificado em preparações de mitocôndrias, resultando da interferência de outros fatores, além da razão ADP/ATP. O controle respiratório será ainda abordado no Capítulo 20.

11.5 INIBIDORES E DESACOPLADORES

A transferência de elétrons pode ser bloqueada por inibidores específicos

Há drogas capazes de atuar especificamente sobre cada um dos complexos da cadeia de transporte de elétrons, impedindo o prosseguimento da transferência de elétrons (Tabela 11.2). O resultado desta ação inibitória é a paralisação do transporte de elétrons e das vias metabólicas que dependem da cadeia para a reoxidação de coenzimas. Deve-se notar que o resultado é o mesmo, qualquer que seja o componente da cadeia sobre o qual a droga atue. De fato, um transportador reduzido, incapaz de passar adiante seus elétrons, é também incapaz de receber elétrons do transportador antecedente. Deste modo, em instantes, todos os componentes da cadeia que se situam antes do ponto de atuação da droga estarão reduzidos, e a cadeia, inoperante. Sem o transporte de elétrons não se forma o gradiente de prótons, e, conseqüentemente, não há síntese de ATP. Estas drogas são, portanto, potencialmente letais.

Tabela 11.2 Inibidores da cadeia de transporte de elétrons e o complexo sobre o qual cada um atua

Inibidores	Complexo
Barbituratos (hipnóticos)	I
Rotenona (inseticida)	I
Malonato (inibidor da succinato desidrogenase)	II
Antimicina A (antibiótico)	III
Cianeto (CN ⁻), monóxido de carbono (CO), azida (N ³⁻)	IV

O transporte de elétrons pode ocorrer sem a síntese de ATP

No início do século passado, foi verificada uma síndrome grave em trabalhadores da indústria de explosivos que estavam expostos ao contato com ácido pícrico (trinitrofenol). O sintoma mais notável, que com freqüência levava a óbito, era a hipertermia. Foi este o fato inicial que levou à descoberta de um grupo de substâncias capazes de atuar sobre o acoplamento da síntese de ATP com o transporte de elétrons. Hoje se sabe que algumas substâncias lipofílicas, como o 2,4-dinitrofenol (DNP, de *dinitrophenol*), são capazes de dissociar o transporte de elétrons da fosforilação oxidativa; estas substâncias são chamadas *desacopladores*. Quando os dois processos são totalmente desacoplados, a síntese de ATP pára; o transporte de elétrons, termodinamicamente autônomo, pode prosseguir.

Graças ao seu caráter hidrofóbico, o DNP pode atravessar membranas e, como é também um ácido fraco, associa-se a prótons no exterior da mitocôndria (onde a concentração de H⁺ é maior), liberando-os na matriz (Fig. 11.15). Impede assim a formação do gradiente de prótons, e a energia que seria usada na síntese de ATP é dissipada como calor. Nestas condições, o transporte de elétrons, feito sem o concomitante transporte de prótons contragradiente, torna-se energético.

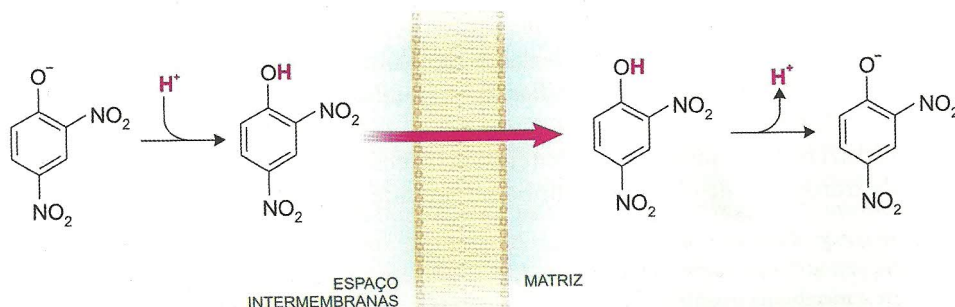


Fig. 11.15 Atuação do 2,4-dinitrofenol como desacoplador — o transporte de prótons através da membrana desfaz o gradiente necessário à síntese de ATP.

mente mais favorável e sua velocidade aumenta. De fato, medidas experimentais simples mostram que, em presença de desacopladores, uma suspensão de mitocôndrias consome oxigênio com velocidade maior do que na sua ausência. Nos anos que se seguiram a esta descoberta, o DNP chegou a ser usado como agente emagrecedor. A expectativa de sua administração era que, acelerando a oxidação de coenzimas sem a concomitante síntese de ATP, a degradação das reservas lipídicas fosse acelerada, ainda mais porque, com pequena produção de ATP, a síntese das gorduras também seria afetada. Este tipo de tratamento foi logo abandonado, porque levou a alguns acidentes fatais. Posteriormente, verificou-se que o DNP é também um agente mutagênico.

O desacoplamento artificialmente provocado por substâncias como o DNP tem seu correspondente fisiológico. Em uma condição hipotética de acoplamento perfeito, os prótons entram na mitocôndria somente através da ATP sintase, na presença de ADP. Todavia, diversas abordagens experimentais demonstram que as mitocôndrias são capazes de consumir oxigênio, mesmo na ausência de ADP. Como, nesta situação, os prótons não podem entrar via ATP sintase, fica evidenciado que existe um "vazamento" de H^+ através da membrana interna da mitocôndria. O retorno de prótons para a matriz mitocondrial, sem ser pela ATP sintase, diminui a força próton-motriz, levando à dissipação da energia de oxido-redução como calor — a eficiência da fosforilação oxidativa, definida pela razão P/O, diminui. O desacoplamento fisiológico resulta de processos diversos que reduzem a eficiência da fosforilação oxidativa, levando à *termogênese*, como, por exemplo, a migração de prótons catalisada por proteínas, diferentes da ATP sintase, descritas a seguir.

A função biológica do desacoplamento da fosforilação oxidativa é mais bem conhecida no tecido adiposo marrom³ de mamíferos. A membrana interna das mitocôndrias deste tecido contém, além da ATP sintase, uma proteína transportadora de prótons, denominada *termogenina* ou *proteína desacopladora 1* ou *UCP1*, de *Uncoupling Protein 1*. Na presença desta proteína, o gradiente de prótons nunca se estabelece com grande eficácia, e uma fração considerável da energia derivada do transporte de elétrons é continuamente dissipada como calor. Desta forma, a oxidação de substratos neste tecido corresponde a termogênese, importante na proteção de mamíferos recém-nascidos, os seres humanos inclusive, e animais adaptados a climas frios, hibernantes ou não. O tecido adiposo marrom, além de apresentar numerosas mitocôndrias, com alto conteúdo de UCP1, é densamente innervado e vascularizado, recebendo a maior parte do fluxo sanguíneo corporal; tais características permitem prover termogênese para todo o organismo. O mecanismo do desacoplamento por UCP1 ainda não é totalmente conhecido.

Nos seres humanos, e em outros mamíferos, o tecido adiposo marrom regride após a infância e UCP1 não é encontrada nos tecidos de adultos. Mas outras proteínas desacopladoras foram identificadas nestes organismos: UCP2 (expressa na maioria dos tecidos), UCP3 (no coração e em músculos esqueléticos), UCP4 e UCP5 (no cérebro); elas promovem, em relação à UCP1, um desacoplamento discreto. Esta característica seria responsável pelas funções fisiológicas atribuídas a estas proteínas, a saber: promover a termogênese de adaptação à exposição ao frio e durante o jejum (as UCPs são estimuladas por catecolaminas, liberadas nessas condições de estresse); reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, que é proporcional ao potencial de membrana (ao transportarem prótons, fazem diminuir o gradiente eletroquímico e, portanto, a formação dessas espécies); acelerar o metabolismo oxidativo, graças à estimulação da cadeia de transporte de elétrons.

As UCPs têm sido consideradas um alvo potencial para o desenvolvimento de terapias para o controle da obesidade. Sua ação desacopladora moderada poderia ter um papel importante no controle do peso corpóreo, a longo prazo (meses ou anos), por atuarem como mediadoras da regulação da taxa metabólica basal pelos hormônios tireoidianos.

A oligomicina impede a síntese de ATP

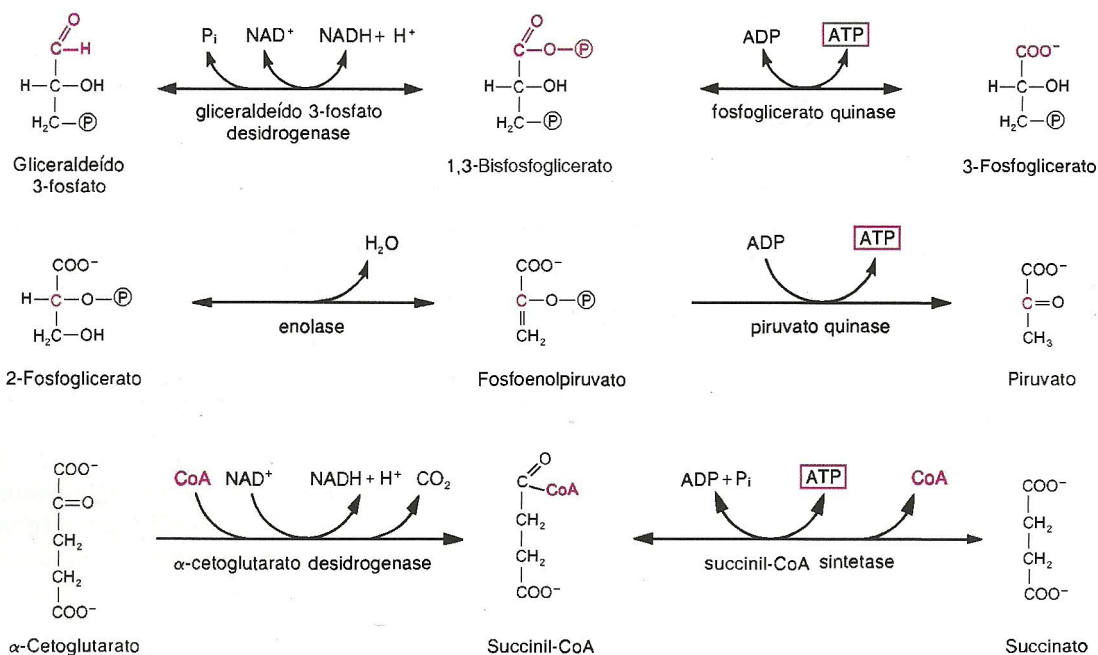
A *oligomicina* é um antibiótico que inibe a produção de ATP. Sua ação é provocada por ligação ao componente F_0 da ATP sintase, que se torna então impermeável a prótons. Como os processos de síntese de ATP e de transporte de elétrons são fortemente acoplados, a interrupção de um deles é de imediato refletida no outro — a manutenção do gradiente de prótons impede o prosseguimento do transporte de elétrons. Embora atuando em outro processo, a fosforilação oxidativa, o efeito deste tipo de inibidor é, portanto, idêntico ao dos inibidores da cadeia de transporte de elétrons (antimicina A, cianeto etc.): pára a síntese de ATP e pára o consumo de oxigênio, indicativo da parada do transporte de elétrons. Apesar disso, experimentalmente, pode-se distinguir com facilidade a inibição da ATP sintase da inibição da cadeia de transporte de elétrons. Basta adicionar à preparação inibida um desacoplador: se a inibição se exerce sobre a ATP sintase, o consumo de oxigênio é restaurado; se a inibição está sendo feita na cadeia de transporte de elétrons, o desacoplador é inócuo. Naturalmente, em ambos os casos, a formação de ATP permanece inibida.

³O tecido adiposo marrom, diferentemente do tecido adiposo típico (ou *tecido adiposo branco*) contém grande número de mitocôndrias e, portanto, alto conteúdo de citocromos, que têm cor marrom.

11.6 FOSFORILAÇÃO NO NÍVEL DO SUBSTRATO

A fosforilação no nível do substrato não é afetada por desacopladores

Chama-se *fosforilação no nível do substrato* a síntese de ATP obtida diretamente em reações que fazem parte da glicólise e do ciclo de Krebs e que utilizam como substratos compostos ricos em energia: 1,3-bisfosfoglicerato, fosfoenolpiruvato e succinil-CoA. Estas reações são sempre precedidas por reações de óxido-redução; no caso da desidratação do 2-fosfoglicerato, há uma óxido-redução intramolecular, onde um carbono é oxidado e outro reduzido. Na reação de óxido-redução, a energia é acumulada em uma ligação com fosfato ou CoA. Na reação seguinte, a ligação rica em energia é rompida e a energia é utilizada para a síntese de ATP (ATP ou GTP, no caso da succinil-CoA sintetase):



A produção de ATP pela fosforilação no nível do substrato responde por uma pequena fração do total produzido em condições aeróbias e, por ser independente do transporte de elétrons, não é afetada por desacopladores.

11.7 CADEIAS DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS BACTERIANAS

Nem sempre o aceptor final de elétrons é o oxigênio

Nas seções anteriores, foram descritas as características da cadeia de transporte de elétrons que se processa nas mitocôndrias, bastante conservada entre os eucariotos. Não é, entretanto, o único tipo de cadeia de transporte de elétrons encontrada nos seres vivos. Nas bactérias, encontram-se cadeias de transporte de elétrons muito mais diversificadas. Nestes organismos, embora os princípios gerais já descritos sejam obedecidos, há grandes variações quanto aos componentes da cadeia, desde os substratos iniciais fornecedores de elétrons até o seu aceptor final. Assim, além das coenzimas reduzidas, podem ser fornecedores de elétrons uma série de substratos inorgânicos, como NH_4^+ , NO_2^- , H_2S , H_2 , enxofre e ferro. O aceptor final pode também variar e, além do oxigênio, podem ter esta função: NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} e substâncias orgânicas, como o fumarato. Quando o aceptor final é diferente do oxigênio, a cadeia é dita anaeróbia e caracteriza a chamada *respiração anaeróbia*, em contraposição à "*respiração aeróbia*", que utiliza O_2 como aceptor final de elétrons. As diferentes modalidades de cadeias de transporte de elétrons bacterianas constituem adaptações importantes para o aproveitamento das substâncias disponíveis no meio ambiente — são características favoráveis na competição com outras espécies para a colonização de diferentes nichos ecológicos.

11.8 RENDIMENTO DA OXIDAÇÃO DA GLICOSE

A oxidação completa da glicose produz 38 ATP

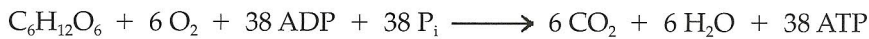
A importância da cadeia de transporte de elétrons e da fosforilação oxidativa como mecanismo de obtenção de energia nos organismos aeróbios fica evidenciada quando se analisa a produção de ATP a partir da oxidação de um nutriente como a glicose. O cômputo da quantidade total de ATP resultante da oxidação de glicose é facilitado pela análise, em separado, das etapas em que o processo se divide, ou seja, oxidação de:

- I. glicose a 2 piruvato
- II. 2 piruvato a 2 acetil-CoA
- III. 2 acetil-CoA pelo ciclo de Krebs
- IV. NADH e FADH₂ pela cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.

Em cada uma das etapas I a III, verifica-se a formação de coenzimas reduzidas e de ATP por fosforilação no nível do substrato, e somam-se estes valores. A quantidade de ATP produzida na fase IV por fosforilação oxidativa acoplada à oxidação deste total de coenzimas é obtida, considerando-se a síntese de 3 ATP para cada NADH e 2 para cada FADH₂. A oxidação completa de um mol de glicose está discriminada na tabela seguinte:

Etapa	I	II	III	I+II+III	IV	Mols de ATP formados
Coenzimas produzidas	2 NADH	2 NADH	6 NADH 2 FADH ₂	10 NADH 2 FADH ₂	30 ATP 4 ATP	30 4
Fosforilação no nível do substrato	2 ATP		2 ATP	4 ATP		4
Total						38

A oxidação biológica da glicose em condições aeróbias produz, portanto, 38 ATP. A equação geral deste processo é:



Em algumas células de eucariotos, o rendimento da oxidação da glicose é reduzido de 38 para 36 ATP porque a oxidação de cada NADH produzido no citossol (glicólise) permite a síntese de apenas 2 ATP (seção seguinte).

11.9 OXIDAÇÃO DO NADH CITOSSÓLICO

A membrana interna da mitocôndria é impermeável a NAD⁺ e NADH, de modo que a oxidação do NADH citossólico não pode ser feita diretamente pela cadeia de transporte de elétrons. Entretanto, as coenzimas reduzidas no citossol podem ser indiretamente oxidadas pela cadeia de transporte de elétrons, graças a sistemas designados *lançadeiras*. Nestes sistemas, os elétrons do NADH são transferidos para um composto citossólico que é capaz de atravessar a membrana interna da mitocôndria; alternativamente, os elétrons são passados para um composto que pode reduzir um componente da membrana interna. Por qualquer dos dois processos, o composto que transporta os elétrons é reoxidado ao doá-los, retorna ao citossol, e pode participar de um novo ciclo. Há duas lançadeiras conhecidas: a do malato-aspartato e a do glicerol fosfato.

1. *Lançadeira do malato-aspartato*. O NADH citossólico reduz oxaloacetato, em uma reação catalisada pela *malato desidrogenase* citossólica. O malato formado entra na mitocôndria, onde é oxidado pela malato desidrogenase mitocondrial, que também utiliza NAD⁺ como coenzima (Fig. 11.16). Este processo leva à produção de NADH mitocondrial a partir de NADH citossólico, apesar de não haver permeabilidade da membrana interna ao NADH. O oxaloacetato formado na mitocôndria não atravessa a membrana interna, mas pode receber um grupo amino do glutamato, formando aspartato. Este sai da mitocôndria e, no citossol, regenera o oxaloacetato (Fig. 11.17). Como esta lançadeira é reversível, o seu sentido depende dos níveis de NADH citossólico e mitocondrial. A passagem de malato e aspartato através da

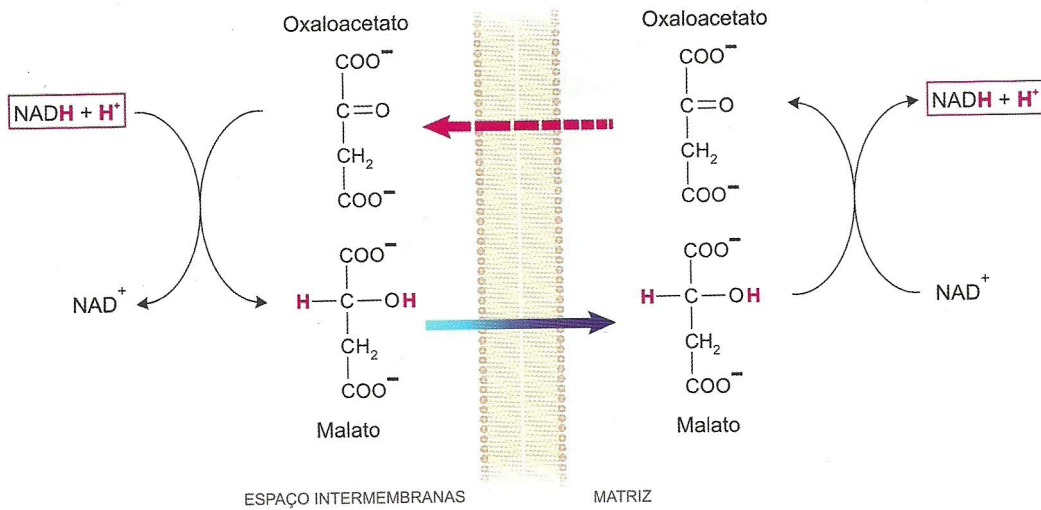


Fig. 11.16 Esquema simplificado da lançadeira do malato-aspartato. O transporte de malato para a matriz mitocondrial (seta azul) e a regeneração de oxaloacetato no citossol (seta vermelha tracejada) estão representados na Fig. 11.17.

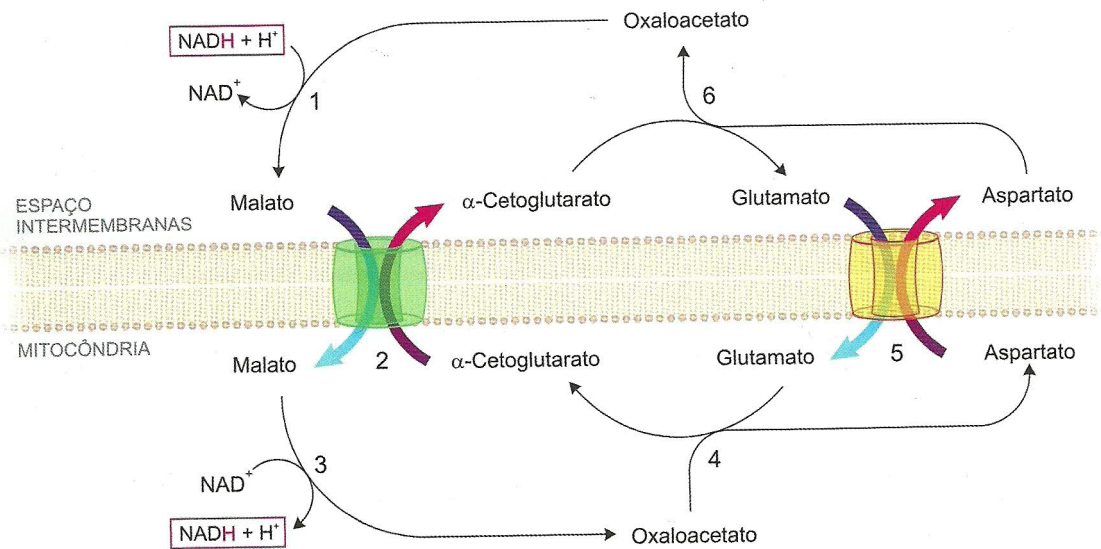


Fig. 11.17 Lançadeira do malato-aspartato. As enzimas e translocases (Seção 11.10) que participam da lançadeira são: (1) malato desidrogenase citossólica; (2) dicarboxilato translocase; (3) malato desidrogenase mitocondrial; (4) aspartato aminotransferase mitocondrial; (5) aspartato-glutamato translocase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

membrana interna da mitocôndria é efetuada por translocases presentes nesta membrana, que serão descritas na Seção 11.10. A lançadeira do malato-aspartato ocorre nas células hepáticas, cardíacas e renais de mamíferos.

2. *Lançadeira do glicerol fosfato.* O NADH citossólico reduz diidroxiacetona fosfato, em uma reação catalisada pela *glicerol 3-fosfato desidrogenase*. O glicerol 3-fosfato formado difunde-se até a face externa da membrana interna, onde se localiza uma isoenzima da glicerol 3-fosfato desidrogenase que contém FAD como grupo prostético. A diidroxiacetona fosfato é regenerada, produzindo FADH_2 , que entrega os elétrons à coenzima Q (Fig. 11.18). Deve-se notar que, quando a lançadeira do glicerol fosfato é acionada, cada NADH origina apenas 2 ATP. Este decréscimo na produção de ATP por NADH citossólico oxidado garante a irreversibilidade do transporte de seus elétrons para o interior da mitocôndria, mesmo que a concentração de NADH no citossol seja baixa. Este sistema opera nos músculos de vôo de insetos e em músculos esqueléticos e cérebro de mamíferos.

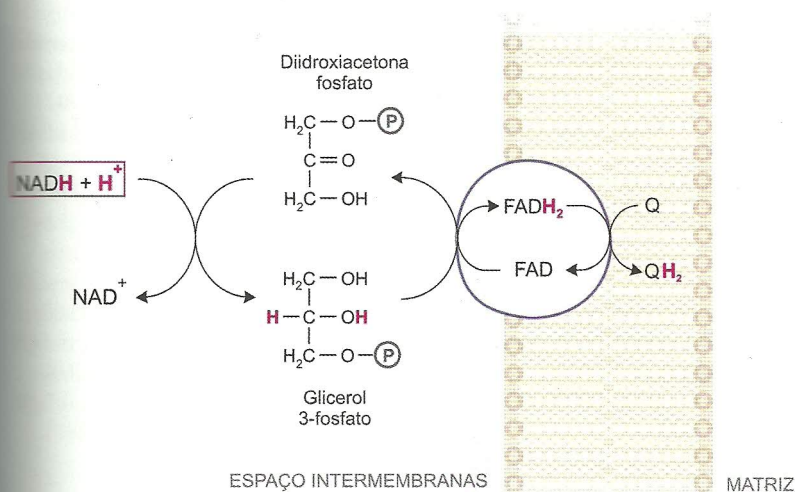


Fig. 11.18 Lançadeira do glicerol fosfato. A esfera representa a glicerol 3-fosfato desidrogenase situada na face externa da membrana interna, que contém FAD como grupo prostético.

11.10 TRANSPORTE DE METABÓLITOS ATRAVÉS DA MEMBRANA INTERNA DA MITOCÔNDRIA

A membrana interna da mitocôndria, ao contrário da membrana externa, é impermeável à maioria dos compostos. Apesar desta alta seletividade, o trânsito de muitos compostos entre a matriz mitocondrial e o citossol é propiciado pela existência de sistemas transportadores — *translocases* ou *permeases* — presentes na membrana interna da mitocôndria (Fig. 11.19). Quando não há um transportador específico, o composto é incapaz de atravessar a membrana.

Os sistemas de transporte da membrana interna da mitocôndria mais bem conhecidos são:

1. *Adenina nucleotídeo translocase* ou *ATP/ADP translocase* — efetua a troca de uma molécula de ATP da matriz mitocondrial por uma molécula de ADP, externa. Sua atuação permite que o ATP sintetizado dentro da mitocôndria possa ser exportado para o citossol, onde ocorre a maioria dos processos que consomem energia. Esta translocase é uma proteína muito abundante, que chega a representar 15% do conteúdo proteico da membrana interna da mitocôndria.

A ATP/ADP translocase pode ser inativada por inibidores específicos, com o conseqüente bloqueio da fosforilação oxidativa. Um deles, *atractilósídeo*, é um glicosídeo tóxico, isolado de uma espécie de erva-daninha que cresce em pastagens, podendo ocasionar o envenenamento do gado. Outro inibidor conhecido é o *ácido bongcréquico*, antibiótico produzido por um fungo que cresce em uma comida típica à base de coco (*bongkreng*, em indonésio). O resultado da inibição da ATP/ADP translocase é o colapso da fosforilação oxidativa e da cadeia de transporte de elétrons. De fato, uma vez fosforilado todo o ADP presente na matriz mitocondrial, a ATP sintase torna-se inativa, por falta de substrato (ADP); a cadeia de transporte de elétrons, que atua acoplada à fosforilação oxidativa, também não pode prosseguir.

2. *Fosfato translocase* — catalisa o cotransporte (simporte) de fosfato e H^+ para a matriz mitocondrial. O transporte de fosfato é inibido por reagentes específicos para grupos sulfidríla, como a *N-etil-maleimida*.

É o resultado das ações conjugadas dessas duas translocases que provê a ATP sintase dos substratos (ADP e P_i) de que necessita.

3. *Dicarboxilato translocase* — promove a troca de dicarboxilatos (malato, succinato, fumarato e α -cetoglutarato) por fosfato, ou troca de um dicarboxilato por outro.

4. *Tricarboxilato translocase* — efetua o antiporte de tricarboxilatos (citrato, isocitrato) e fosfoenolpiruvato por malato ou por tricarboxilatos.

5. *Piruvato translocase* ou *monocarboxilato translocase* — permite a entrada, na mitocôndria, do piruvato produzido no citossol, acoplada à saída de OH^- .

6. *Aspartato-Glutamato translocase* — medeia a saída de aspartato da matriz em troca de glutamato e H^+ do citossol.

7. *Sistemas transportadores de íons Ca^{2+}* — dois sistemas transportadores de cálcio da membrana interna são importantes: um uniportador que possibilita a entrada de Ca^{2+} e um antiportador que introduz na mitocôndria 3 Na^+ para cada Ca^{2+} que sai.

As mitocôndrias, assim como o retículo endoplasmático, constituem um reservatório de cálcio e participam da regulação de sua concentração celular, colaborando para manter os níveis citossólicos de Ca^{2+} caracteristicamente baixos,

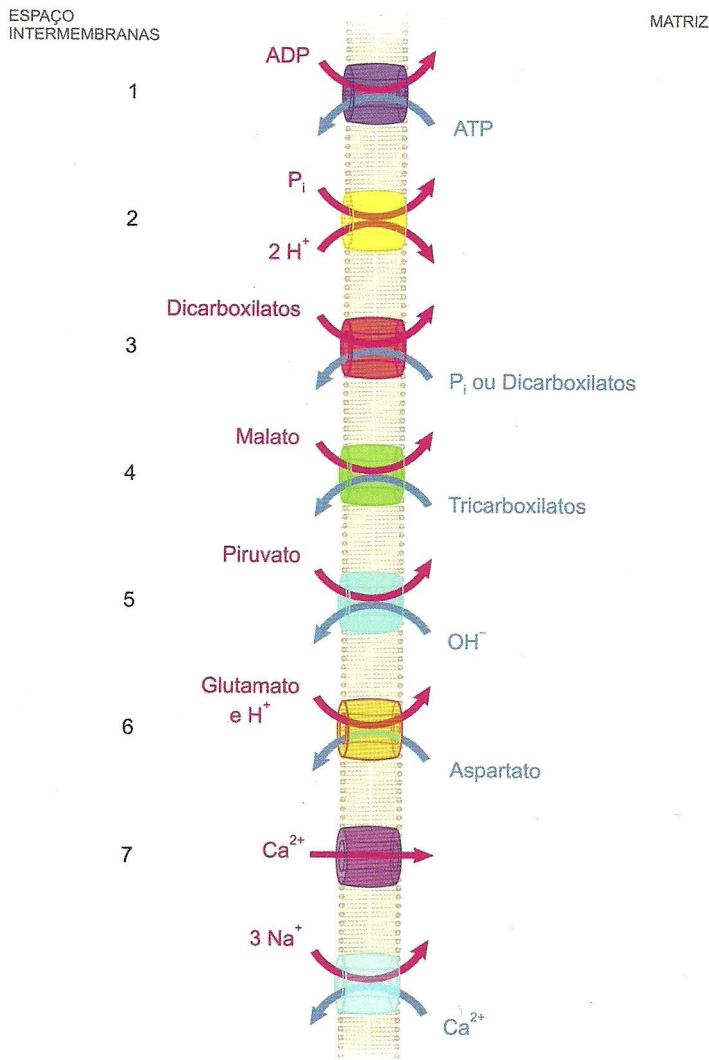


Fig. 11.19 Translocases da membrana interna da mitocôndria, numeradas de 1 a 7 e descritas no texto.

próximos de $10^{-7}M$. Esta regulação é fundamental, porque pequenas alterações na concentração de cálcio sinalizam o início de processos celulares de grande importância, que serão analisados na *Parte 4 — Regulação do Metabolismo*.

A dicarboxilato translocase e a aspartato-glutamato translocase participam da lançadeira do malato-aspartato (Fig. 11.17). As atuações das demais translocases alistadas e ainda de outros sistemas transportadores estão incluídas na descrição das vias metabólicas.

O transporte de metabólitos e íons através da maioria das permeases da membrana interna da mitocôndria é do tipo ativo. A energia necessária para seu funcionamento é derivada do gradiente eletroquímico gerado pelo bombeamento de prótons acoplado à cadeia de transporte de elétrons. As permeases contribuem, portanto, para a dissipação da força próton-motriz, reduzindo o rendimento em ATP. Deste modo, uma parcela significativa da energia derivada do transporte de elétrons é utilizada para contornar a impermeabilidade da membrana interna.

BIBLIOGRAFIA

- Dimroth P et al: Catalytic and mechanical cycles in F-ATP synthases. *EMBO reports* 7:276-282, 2006.
- Frey TG, Mannella CA: The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci* 25:319-324, 2000.
- Garvey WT: The role of uncoupling protein 3 in human physiology. *J Clin Invest* 111:438-441, 2003.
- Hinkle PC: P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 1706:1-11, 2005.
- Hunte C et al: Protonmotive pathways and mechanisms in the cytochrome *bc₁* complex. *FEBS Lett* 545 (1):39-46, 2003.
- Kadenbach B: Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 1604 (2):77-94, 2003.
- Kunji ERS: The role and structure of mitochondrial carriers. *FEBS Lett* 564 (3):239-244, 2004.

- Magder S: Review – Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Crit Care* **10**:208, 2006.
- Mamedova AA et al: Substrate-induced conformational change in bacterial complex I. *J Biol Chem* **279** (22):23830-23836, 2004.
- Mitchell P: Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* **191**:144-148, 1961.
- Nicholls DG: Commentary on: 'Old and new data, new issues: The mitochondrial $\Delta\Psi$ ' by H. Tedeschi. *Biochim Biophys Acta* **1710** (2-3):63-65, 2005.
- Noji H, Yoshida M: The rotatory machine in cell, ATP synthase. *J Biol Chem* **276** (3):1665-1668, 2001.
- Oyedotun KS, Lemire BD: The quaternary structure of the *Saccharomyces cerevisiae* succinate dehydrogenase. Homology modeling, cofactor docking, and molecular dynamics simulation studies. *J Biol Chem* **279** (10):9424-9431, 2004.
- Tedeschi H: Old and new data, new issues: The mitochondrial $\Delta\Psi$. *Biochim Biophys Acta* **1709** (3):195-202, 2005.
- Tedeschi H: Reply to David Nicholls' response. *Biochim Biophys Acta* **1710**:66, 2005.
- Weber J, Senior AE: ATP synthesis driven by proton transport in F_1F_0 -ATP synthase. *FEBS Lett* **545** (1):61-70, 2003. In: Trumpower BL (editor): Protonmotive Mechanisms of Energy Transduction Enzymes. *FEBS Lett – Special Issue* **545** (1), 2003.
- Yoshikawa S et al: Redox-coupled crystal structural changes in bovine heart cytochrome c oxidase. *Science* **280** (5370):1723-1729, 1998.