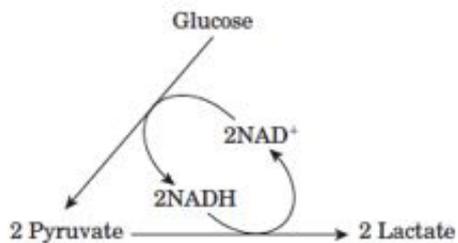


CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

18-SET-2020

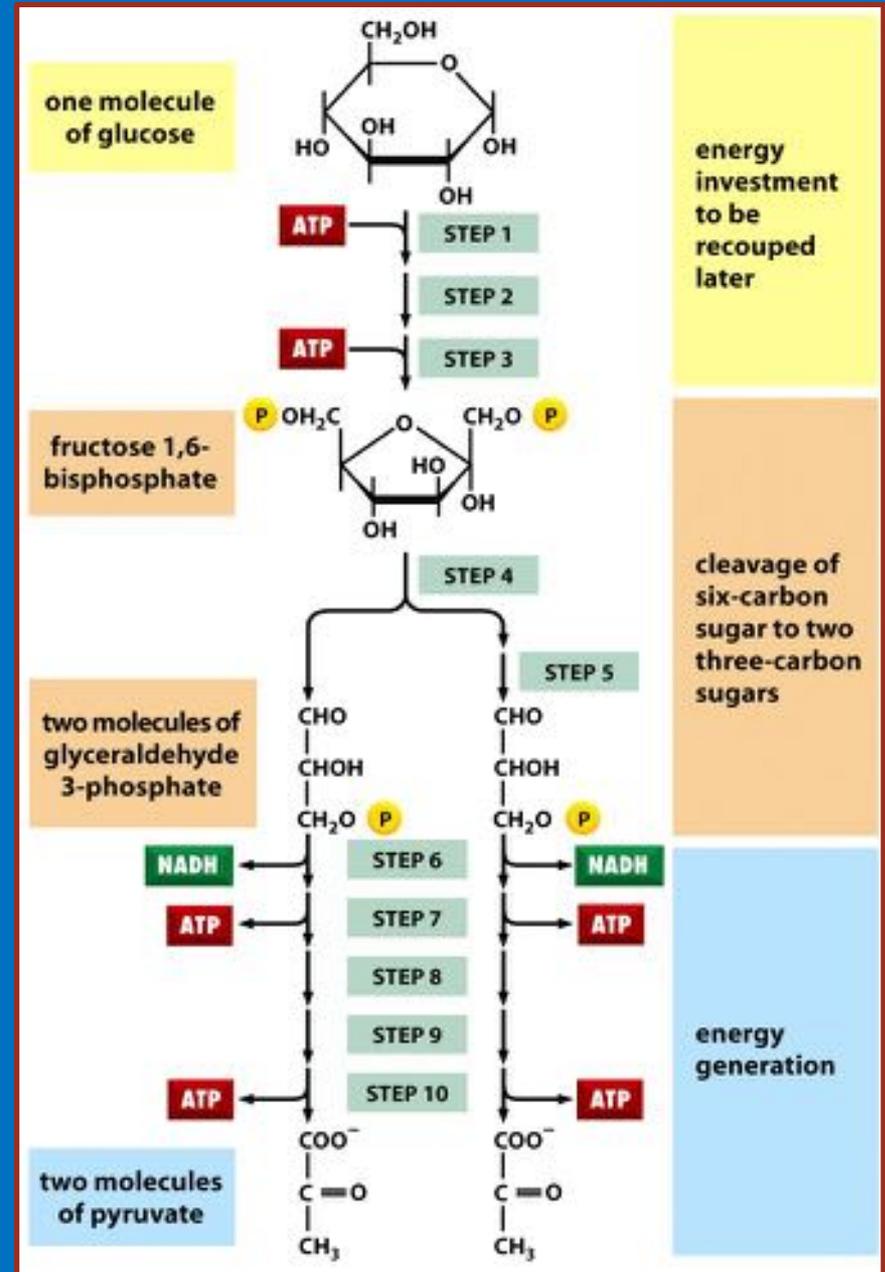
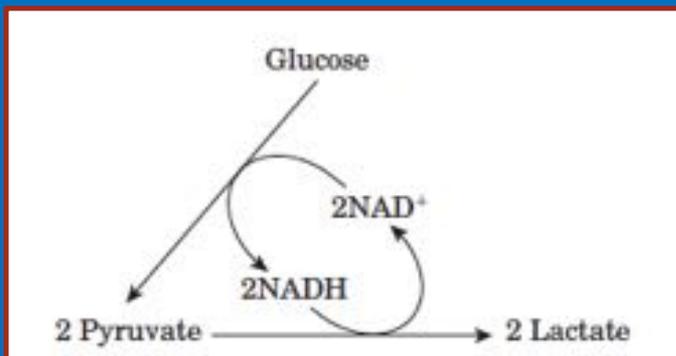
QBQ 0314 – Nutrição Noturno

A glicose é a principal fonte de energia rápida: 110 m com barreiras



A glicose e o lactato

- Em condições anaeróbicas (sem O₂), o NADH não é regenerado a NAD⁺.
- Neste caso, piruvato é oxidado a lactato (músculo) ou a etanol (leveduras) para que o NAD⁺ possa ser regenerado.
- Isto permite que a via glicolítica continue ativa.
- Porém, o rendimento de ATP por molécula de glicose é muito baixo e o processo, pouco eficiente.
- Apenas 2 ATP são produzidos por unidade de glicose



Porém, na maratona o corpo precisa de nutrientes com maior rendimento de ATP



A energia da glicose



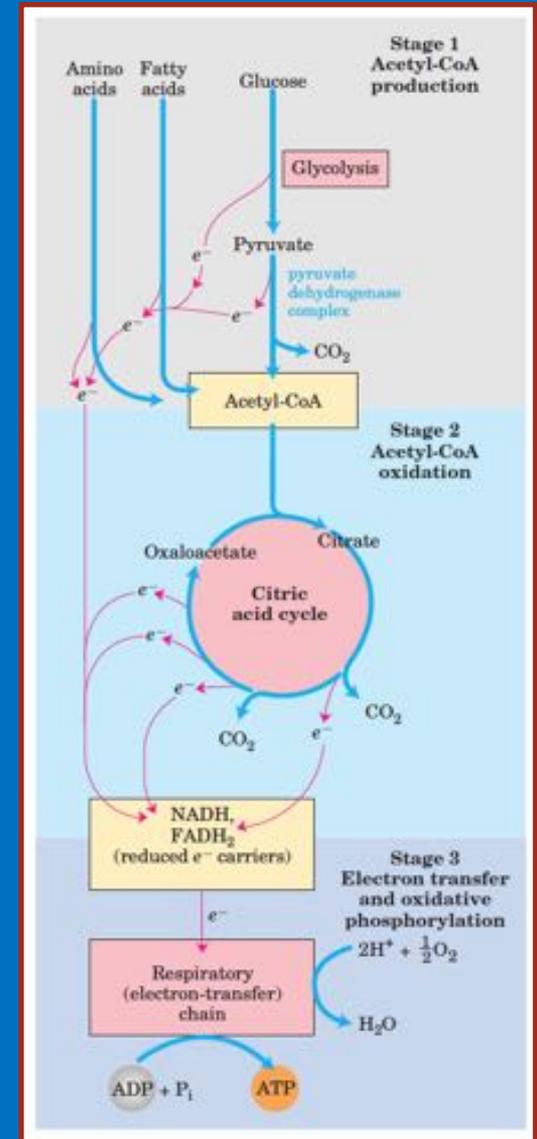
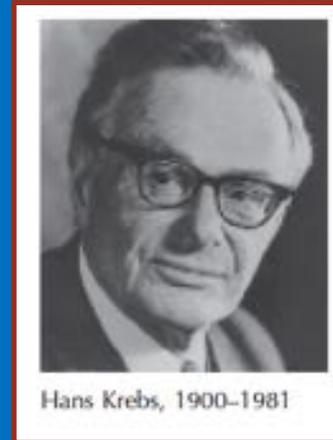
- Parte da energia é obtida com a “quebra” de algumas ligações, e a transferida para as ligações fosfato do ATP ou GTP
- O restante, permanece na forma de potencial redutor (NADH e FADH₂)
- Como esta energia é transferida para as ligações fosfato do ATP?
- Se fosse através de uma reação química, poderíamos obter mais 12 ATP...



- Porém, o rendimento completo da oxidação da glicose é de até 32 ATP
- Como?

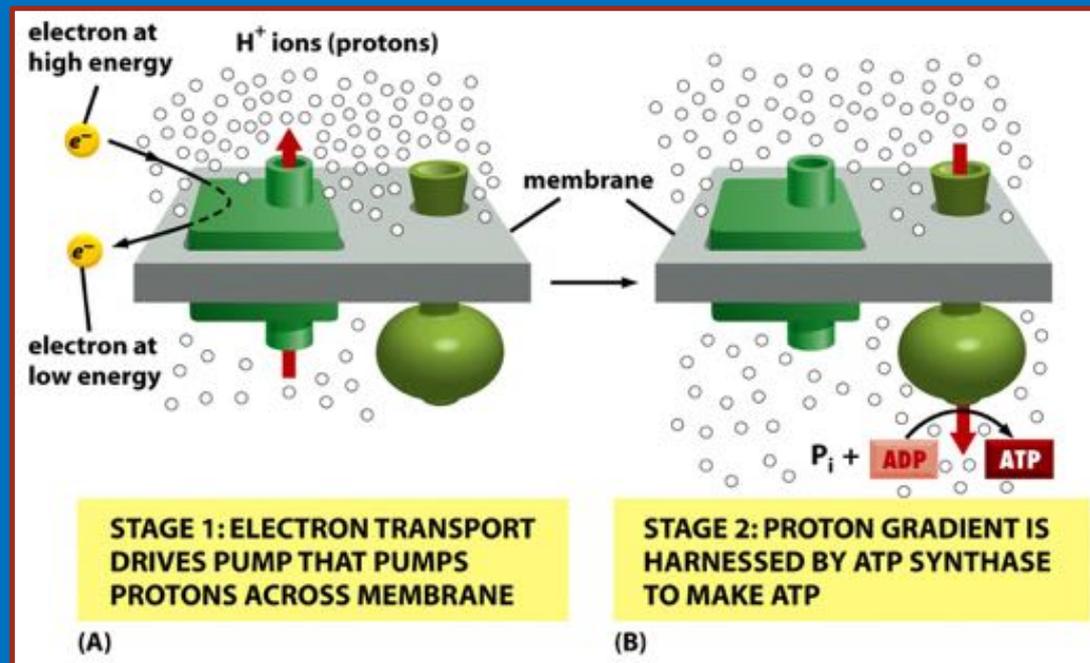
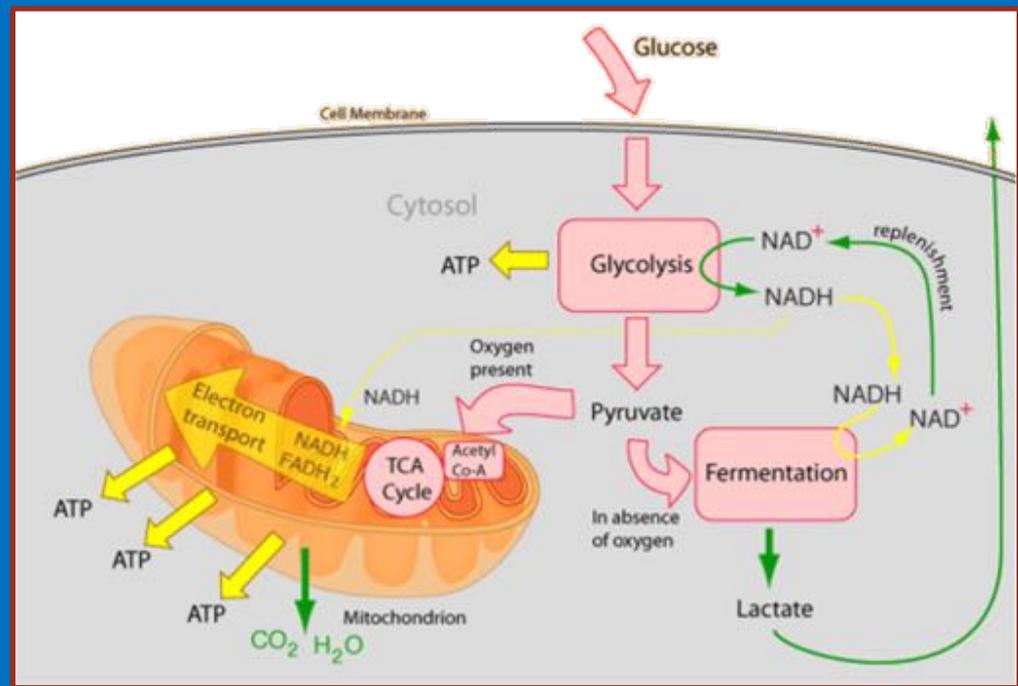
Respiração

- Como vimos na aula anterior, muitas células utilizam a fermentação da glicose para obtenção de ATP.
- Porém, para as células eucarióticas e diversas bactérias que vivem em condições aeróbicas, esta é apenas a primeira etapa do processo.
- Nestas células, o piruvato é reduzido até CO_2 e H_2O , ao invés de lactato ou etanol.
- Neste processo, o piruvato é processado primeiramente no ciclo de Krebs, também chamado de ciclo do ácido cítrico ou ciclo dos ácidos tricarbóxílicos (TCA).
- Este processo é chamado de "respiração celular".
- No ciclo de Krebs o piruvato é oxidado a CO_2 , transferindo os elétrons para o NADH e FADH_2 .
- O NADH e o FADH_2 são então regenerados na cadeia respiratória (ou fosforilação oxidativa), formando H_2O e ATP.



A mitocôndria e a produção de energia na célula

- Como veremos, a mitocôndria é organela responsável pela geração de energia na célula.
- Assim como uma hidrelétrica, a mitocôndria produz um gradiente de prótons a partir do NADH/FADH.
- Este gradiente é então utilizado para sintetizar o ATP.

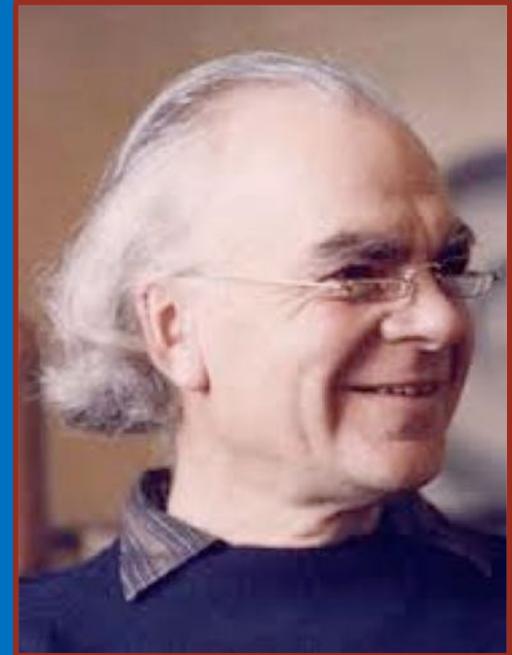


A teoria quimiosmótica, a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP são com uma represa e a hidroelétrica



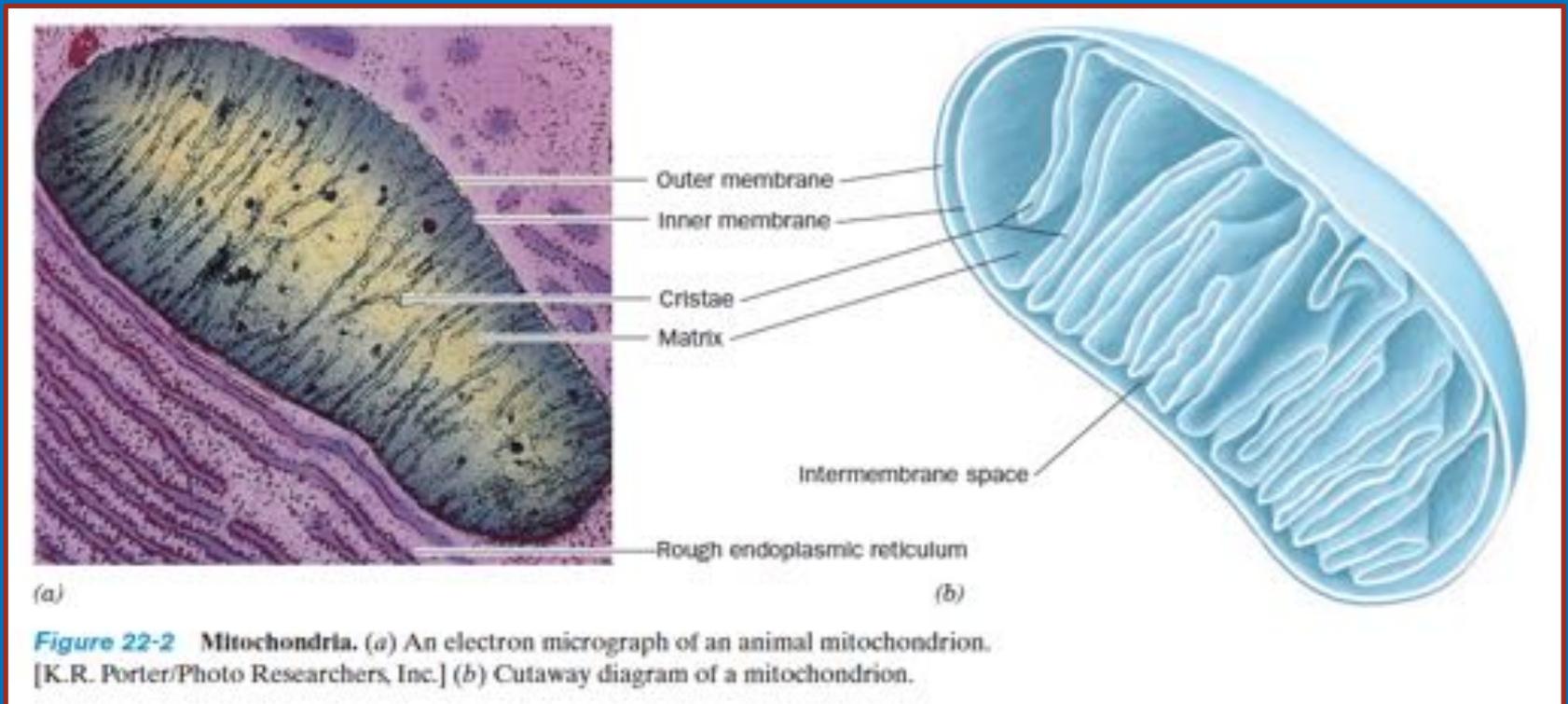
A teoria quimiosmótica: a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP

- Peter Dennis Mitchell foi um pesquisador Britânico que propôs a teoria quimiosmótica
- Em 1978 ele recebeu o premio Nobel de Química.



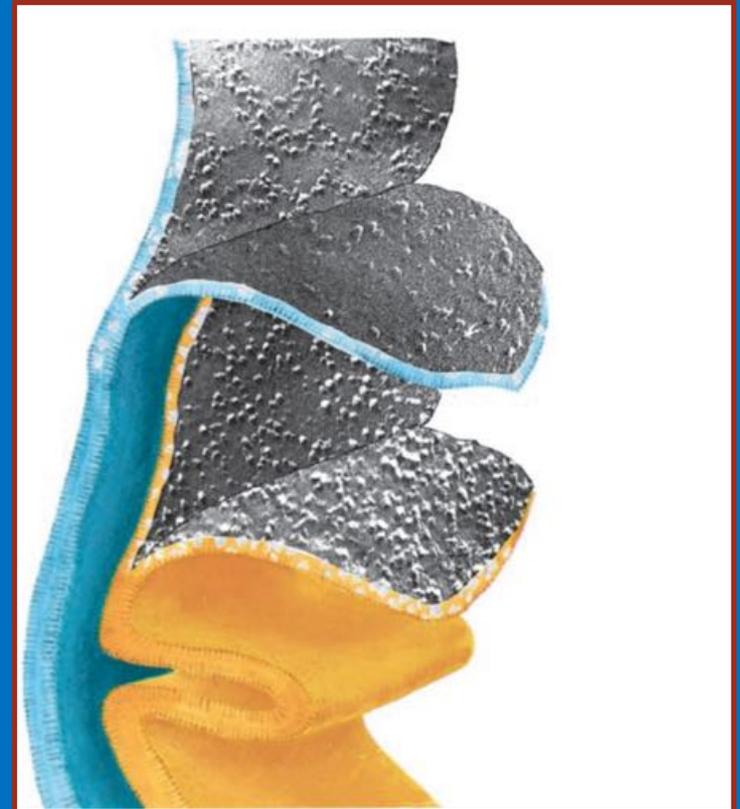
A cadeia de transporte de elétrons também está na mitocôndria

- Assim como o ciclo de Krebs, a cadeia respiratória se encontra dentro da mitocôndria.
- A mitocôndria possui uma membrana interna e externa.
- Por isso, a mitocôndria contém citoplasma próprio, chamado de matriz mitocôndria e uma região (espaço) intramembranar.



A cadeia de transporte de elétrons também está na mitocôndria

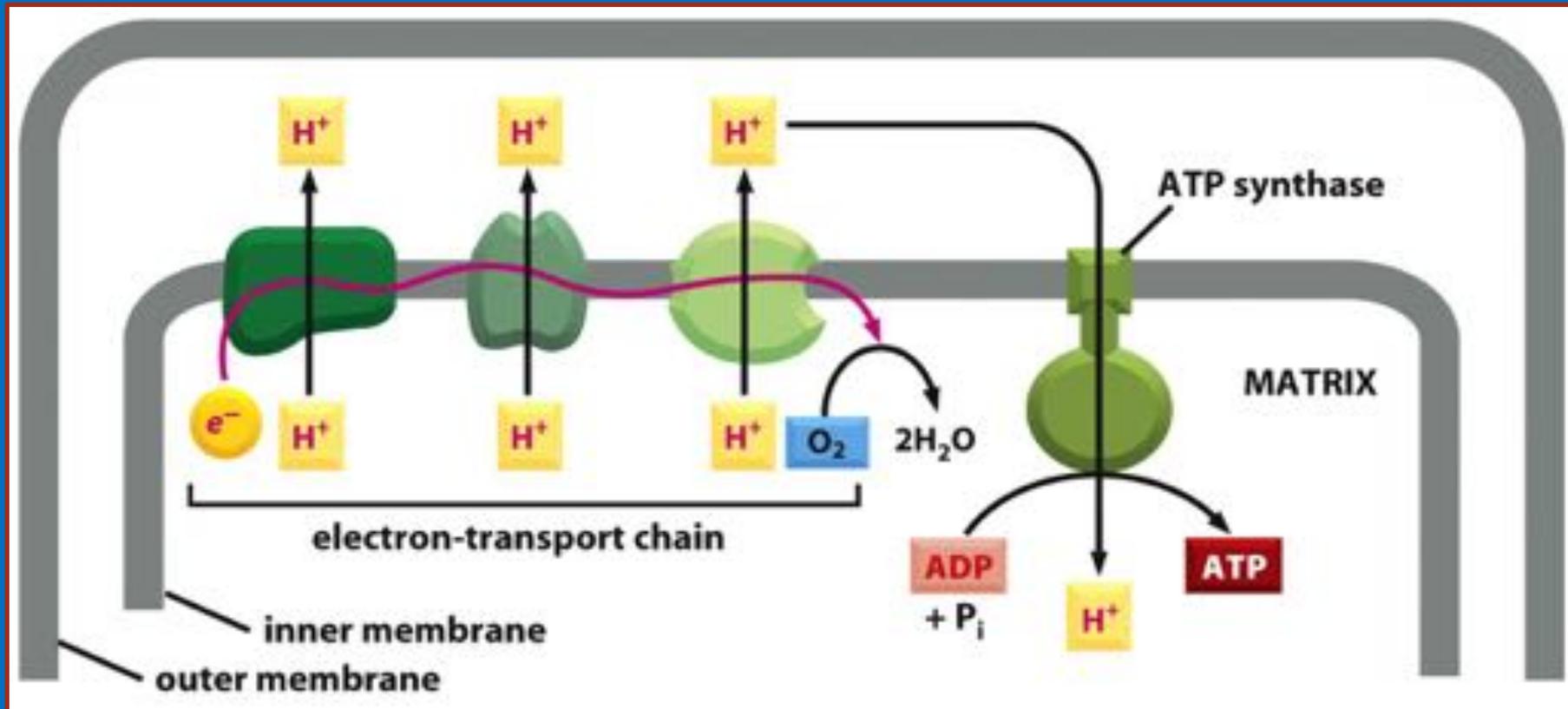
- A membrana externa contém a proteína porina, que é um canal relativamente permeável a compostos menores do que 10.000 Da.
- Já a membrana interna é mais seletiva.
- Elas são permeáveis apenas O_2 , CO_2 e H_2O .
- Os outros substratos precisam ser transportados ativamente (piruvato, ADP, ATP, P_i , Ca^{2+} , etc)
- A membrana interna é rica em proteínas (~75% em massa).
- A membrana interna é mais extensa que a externa, produzindo dobras (cristas),



Freeze-fraction electron-microscopy

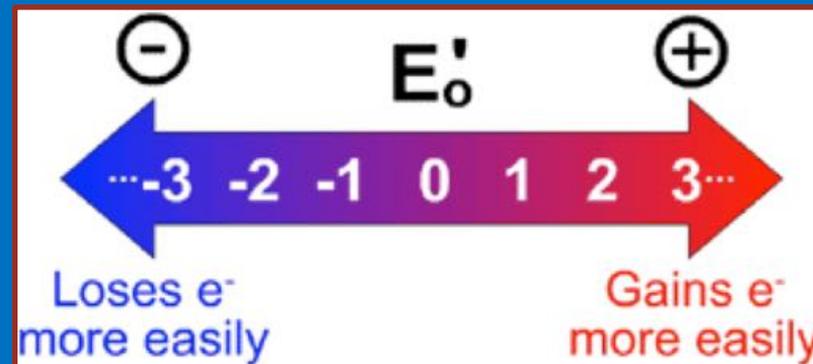
A teoria quimiosmótica: a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP

- A cadeia transportadora de elétrons é composta por vários complexos enzimáticos.
- Os elétrons são transferidos de um complexo enzimático para o outro, liberando parte da energia em cada etapa.
- Esta energia é utilizada para bombear prótons (H^+) para a espaço intramembranar da mitocôndria.
- Este gradiente de prótons (H^+) é então utilizada para a síntese do ATP.
- A teoria quimiosmótica foi proposta pelo pesquisador Peter Mitchell em 1961.



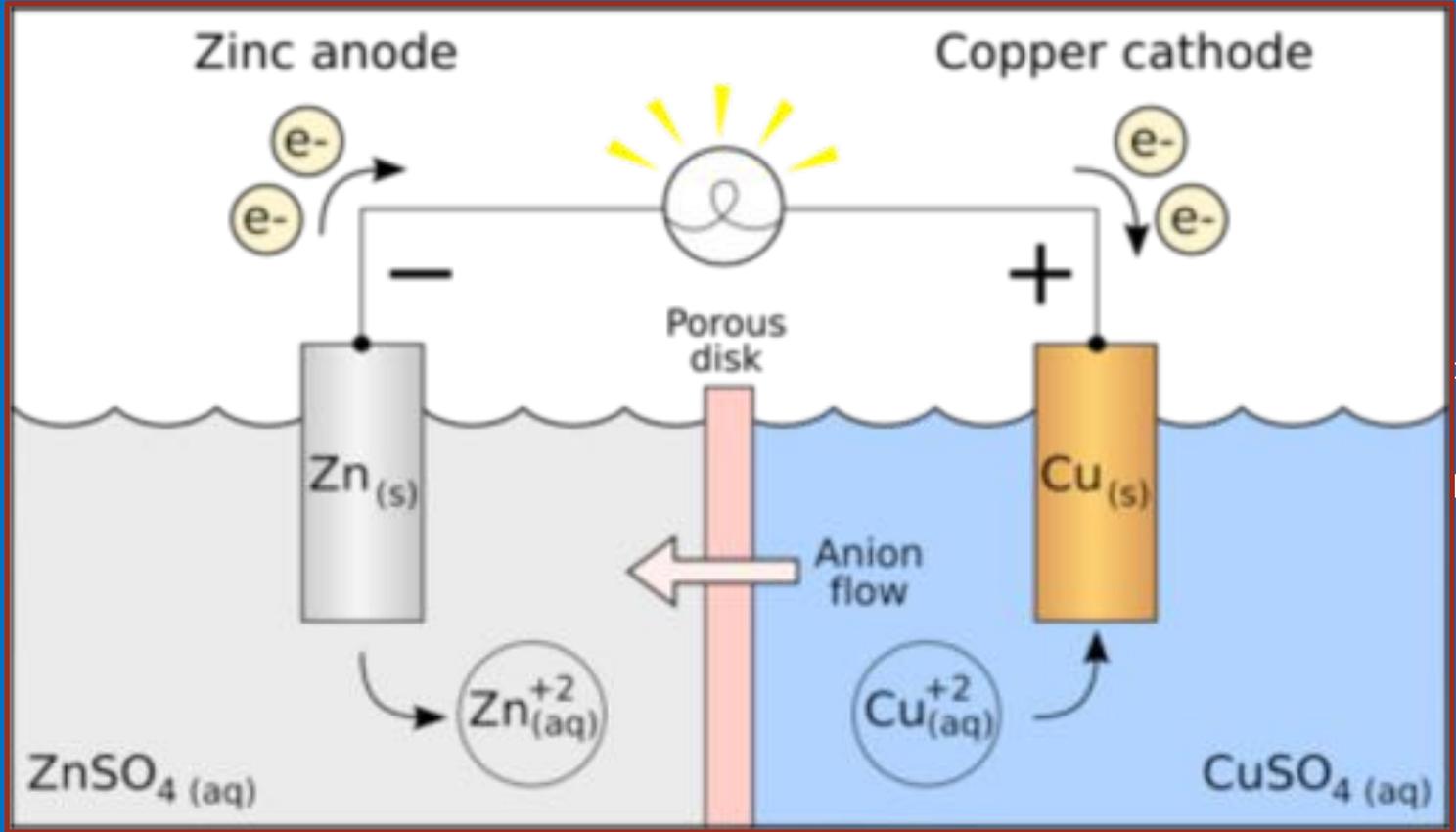
A oxidação das coenzimas libera grande quantidade de energia

- Nos organismos aeróbicos, a oxidação das coenzimas é feita através da transferência de seus elétrons para o oxigênio, formando H_2O .
- O potencial de redução do $NAD^+/NADH$ é de $-0,32$ V e o potencial do O_2/H_2O vale $+0,82$.
- Lembrem-se, o potencial Redox indica a capacidade de uma espécie química receber elétrons.
- Quando mais positivo o potencial Redox, maior a afinidade da espécie em receber elétrons e ser reduzido.
- Assim, o O_2/H_2O tem um potencial Redox maior do que o $NAD^+/NADH$, ou seja, o oxigênio recebe os elétrons do $NADH$, oxidando o mesmo para NAD^+ e se reduzindo a H_2O .



A oxidação das coenzimas libera grande quantidade de energia

- Nos organismos aeróbicos, a oxidação das coenzimas é feita através da transferência de seus elétrons para o



Loses e^- more easily

Gains e^- more easily

do.
létrons do

A oxidação das coenzimas libera grande quantidade de energia

- O potencial de redução do NAD⁺/NADH é de -0,32 V e o potencial do O₂/H₂O vale +0,82.

- Assim, a energia livre liberada pode ser calculada e é de:

$$\Delta G^{\circ} = -nF \Delta E^{\circ}$$

$$\Delta G^{\circ} = -2 \times 96,5 \times [0,82 - (-0,32)]$$

$$\Delta G^{\circ} = -220 \text{ kJ/mol}$$

- Este valor é bastante alto comparado ao valor da síntese de ATP ($\Delta G^{\circ} = +31 \text{ kJ/mol}$).

- Assim, a oxidação de 1 mol de NADH libera energia livre suficiente para a síntese de alguns moles de ATP.

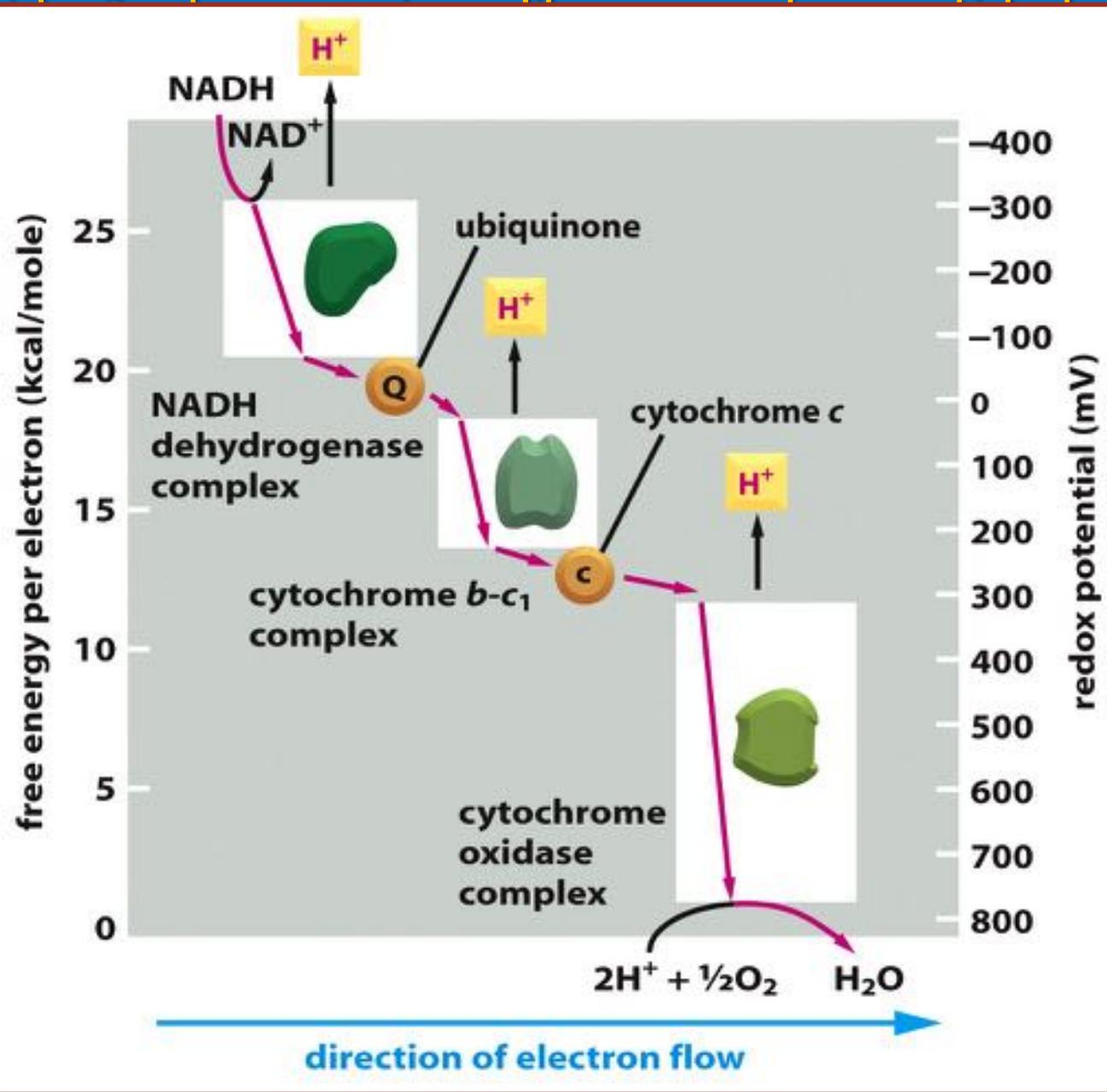
- Como?

TABLE 19-2 Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

Redox reaction (half-reaction)	E° (V)
$2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^{+} + \text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^{+} + \text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2)$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b \text{ (Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{cytochrome } b \text{ (Fe}^{2+})$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 \text{ (Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{cytochrome } c_1 \text{ (Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cytochrome } c \text{ (Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{cytochrome } c \text{ (Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a \text{ (Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{cytochrome } a \text{ (Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 \text{ (Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{cytochrome } a_3 \text{ (Fe}^{2+})$	0.35
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.8166

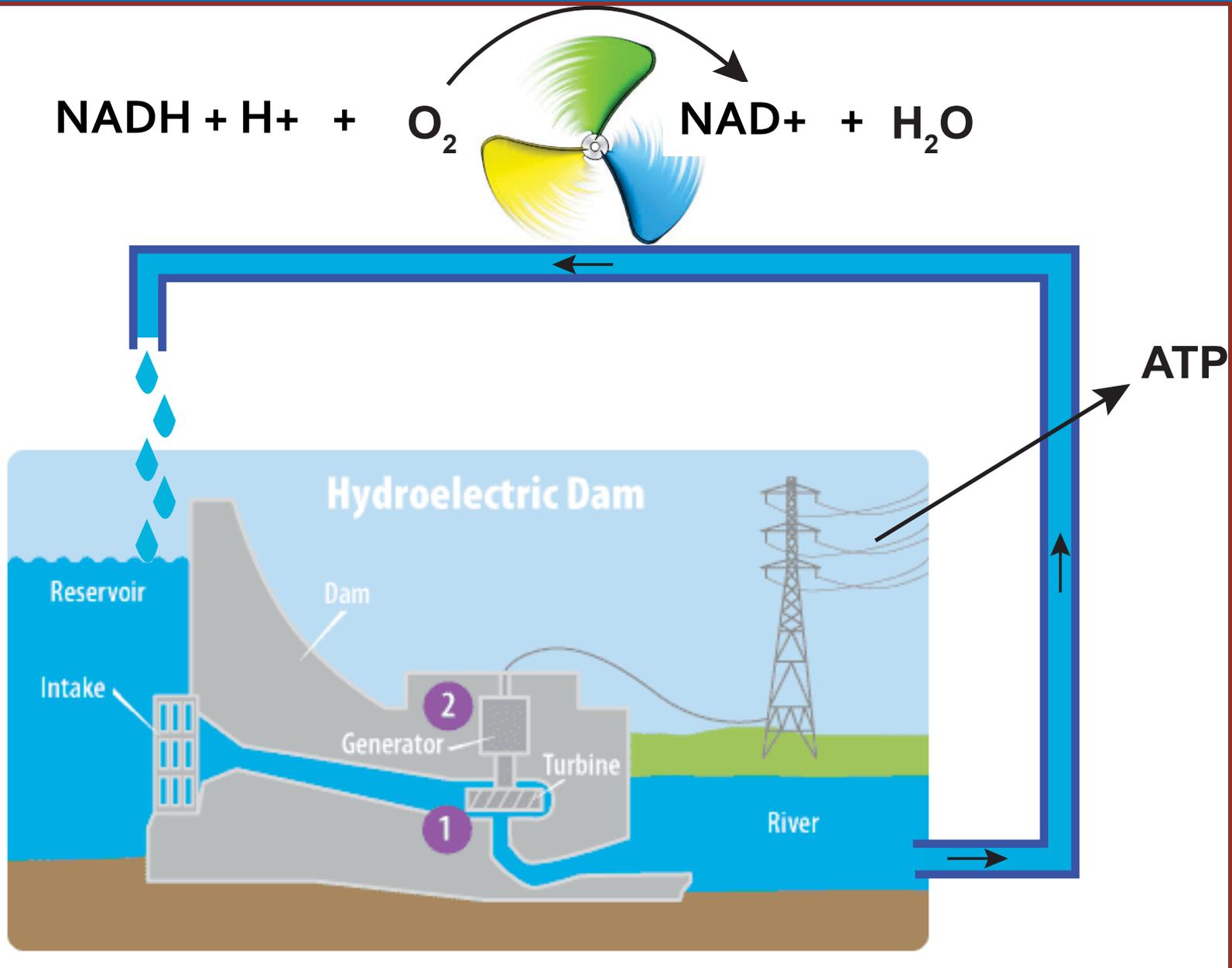
A oxidação da glicose libera energia

- O potencial padrão de redução é de 0,32 V e a energia liberada é de 20 kcal/mole.
- Assim, a energia liberada é calculada a partir da seguinte equação:
- Este valor é utilizado para a síntese de ATP.
- Assim, a energia liberada é utilizada para a síntese de alguns produtos.
- Como?



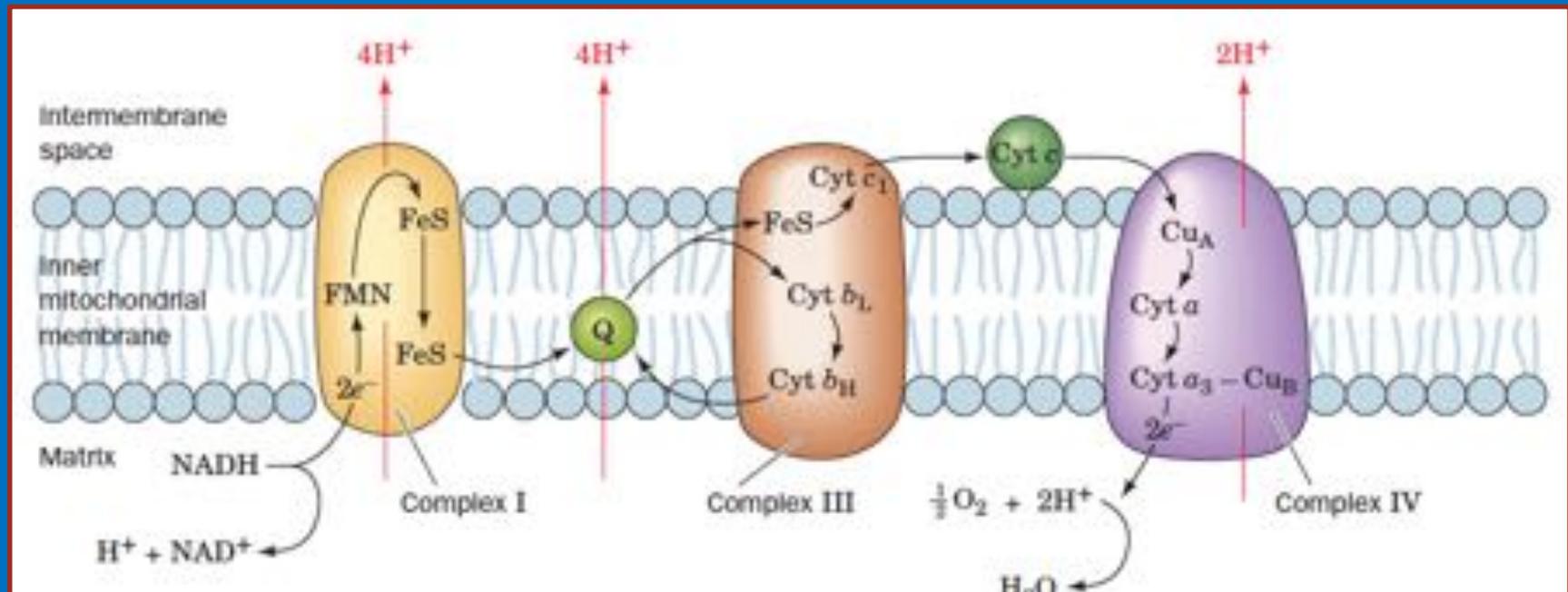
Related Electron Carriers	
	E'° (V)
	-0.414
	-0.320
	-0.324
	-0.30
	0.045
	0.077
	0.22
	0.254
	0.29
	0.35
	0.8166

A mitocôndria e a produção de energia na célula



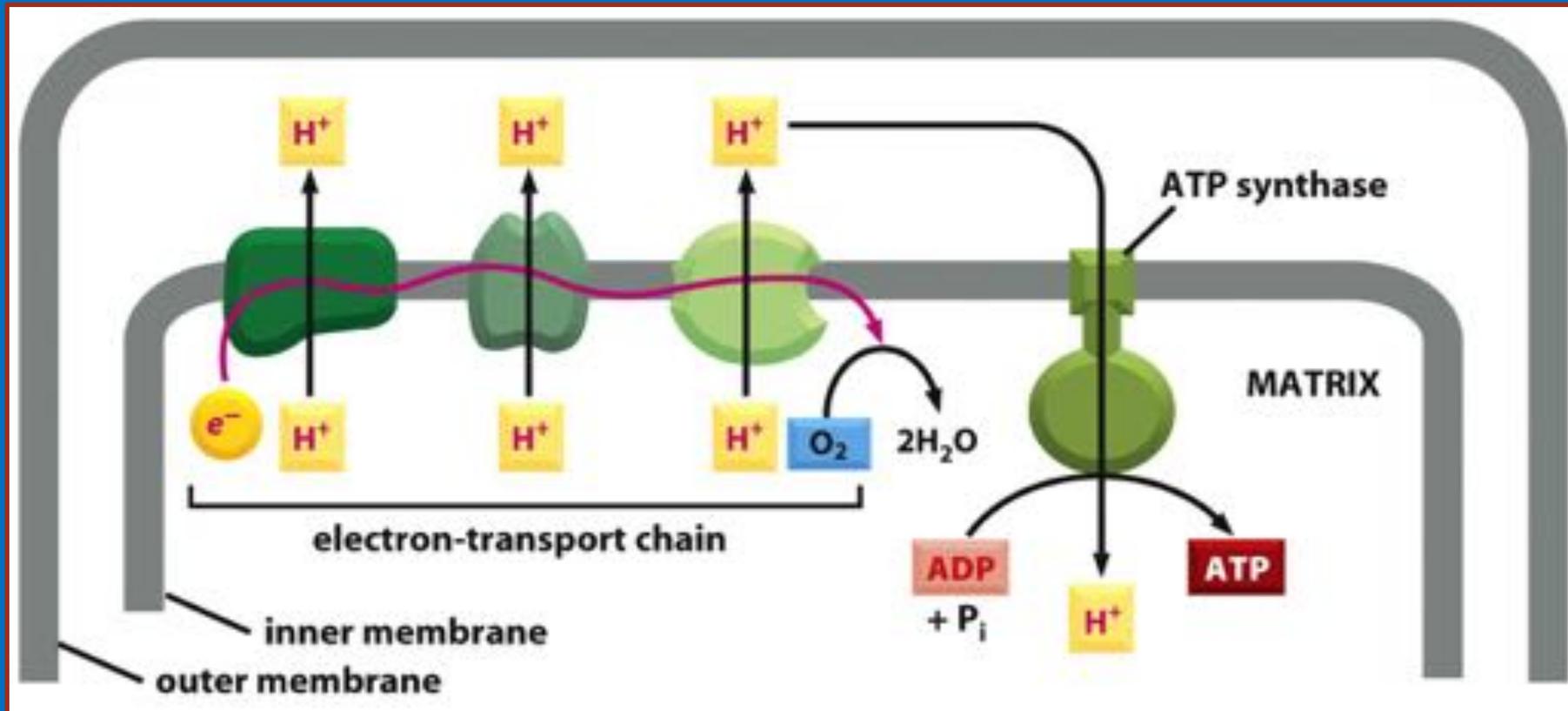
Os complexos contêm grupos prostéticos que transportam os elétrons

- Os complexos são proteínas com grupos prostéticos capazes de transportar elétrons.
- Estes grupos podem ser cofatores (FAD, FMN, citocromos ou complexos FeS).



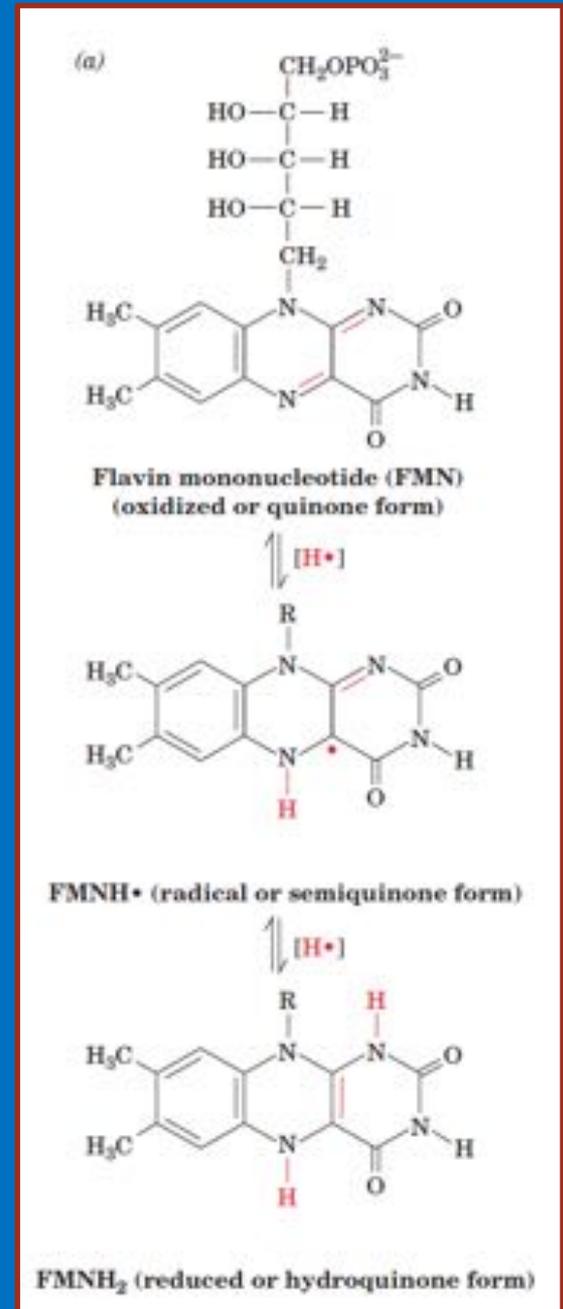
Os complexos contêm grupos prostéticos que transportam os elétrons

- Os complexos são proteínas com grupos prostéticos capazes de transportar elétrons.
- Estes grupos podem ser cofatores (FAD, FMN, citocromos ou complexos FeS).



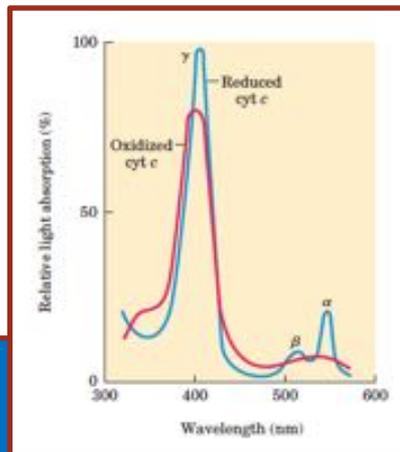
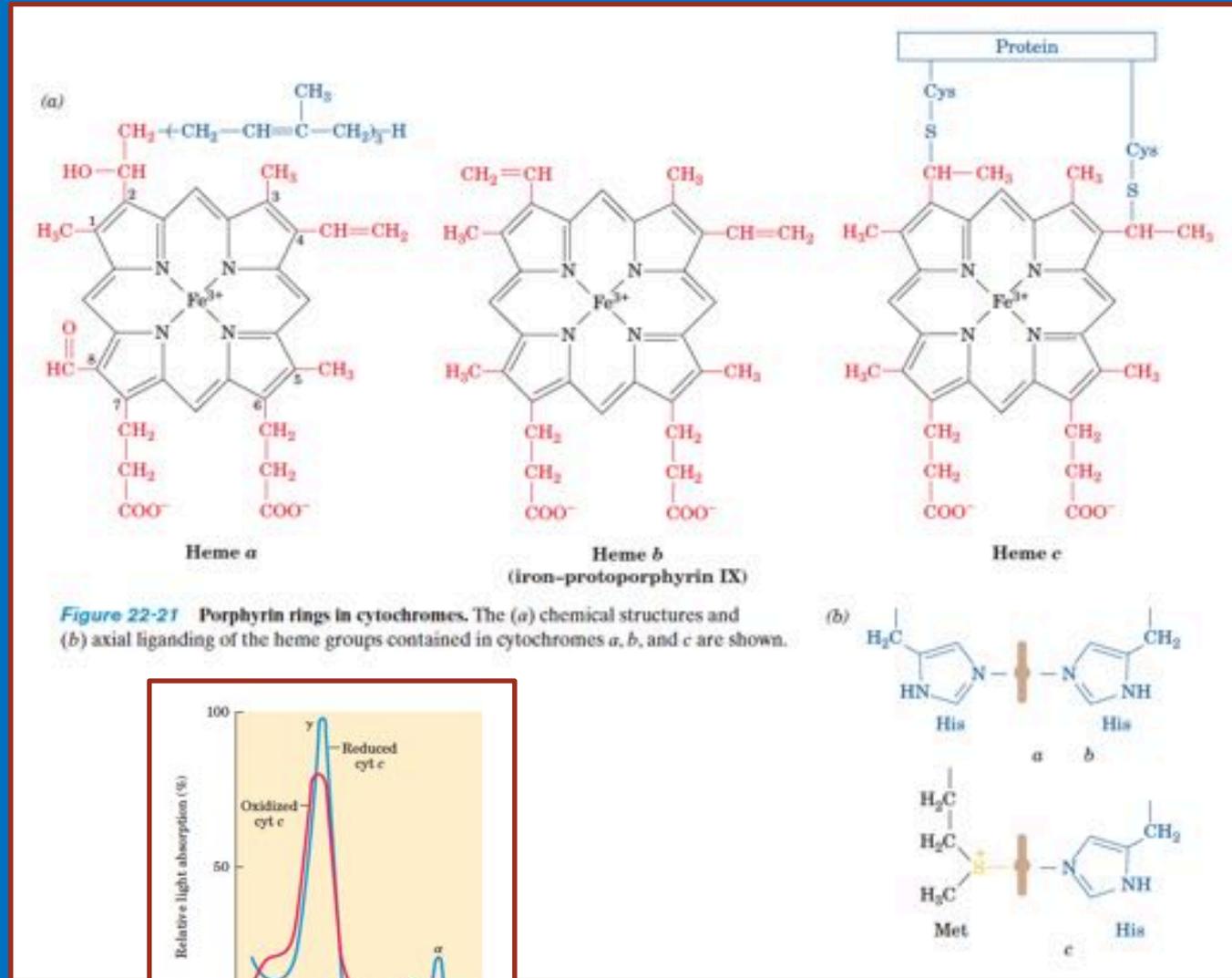
A Flavina mononucleotide (FMN)

- Um dos grupos aceptores de elétrons é a flavina mononucleotide.
- O FMN é produzido a partir da riboflavina (vit. B2).
- O FMN recebe elétrons e H+.



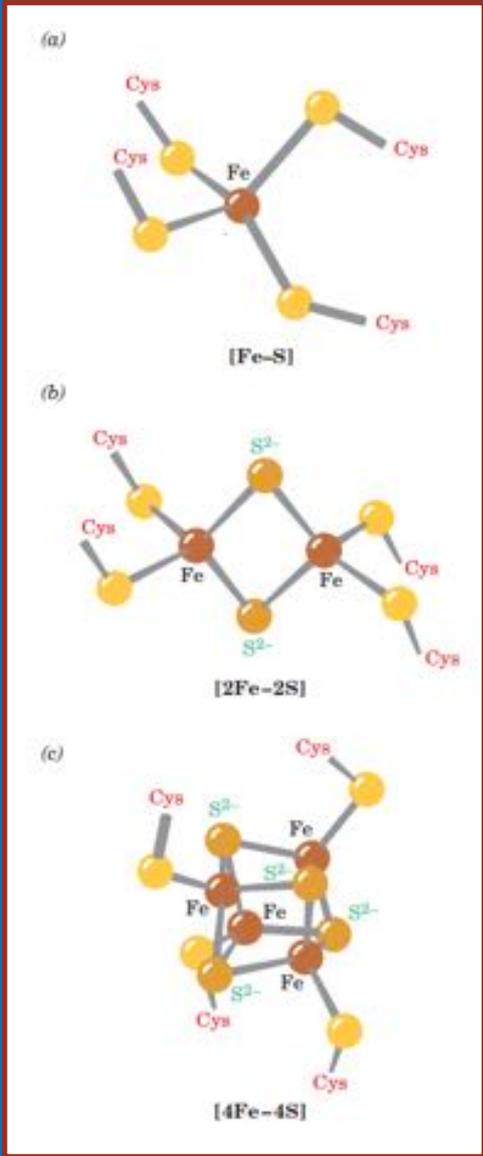
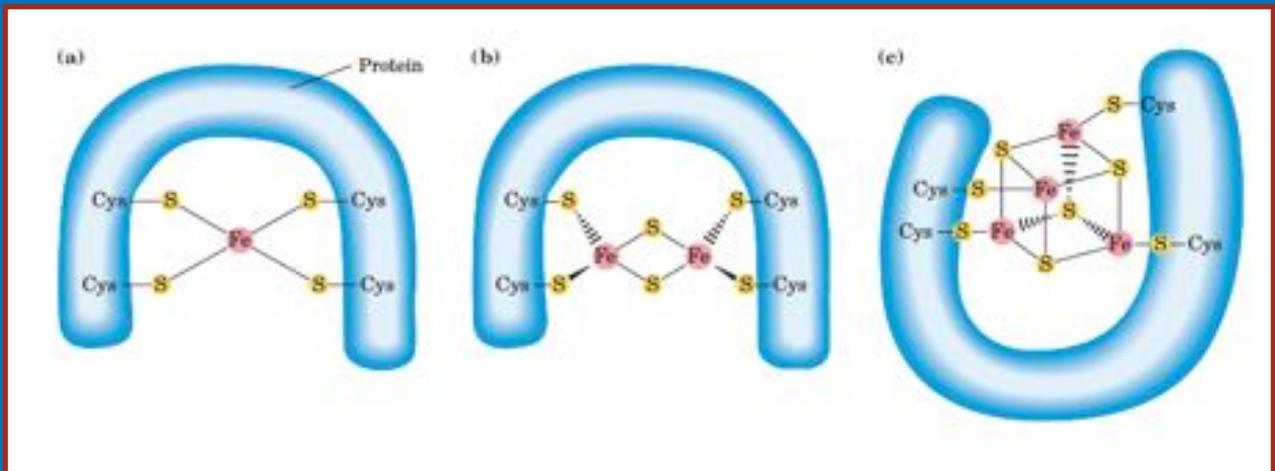
Os citocromos

- Os citocromos são proteínas que contêm grupos heme que podem alternar seu estado redox entre Fe(II) e Fe(III).
- Na mitocôndria há 3 tipos de citocromos (denominados a, b & c).
- Eles são classificados ainda de acordo com o tipo de grupo heme e seu máximo de absorção.



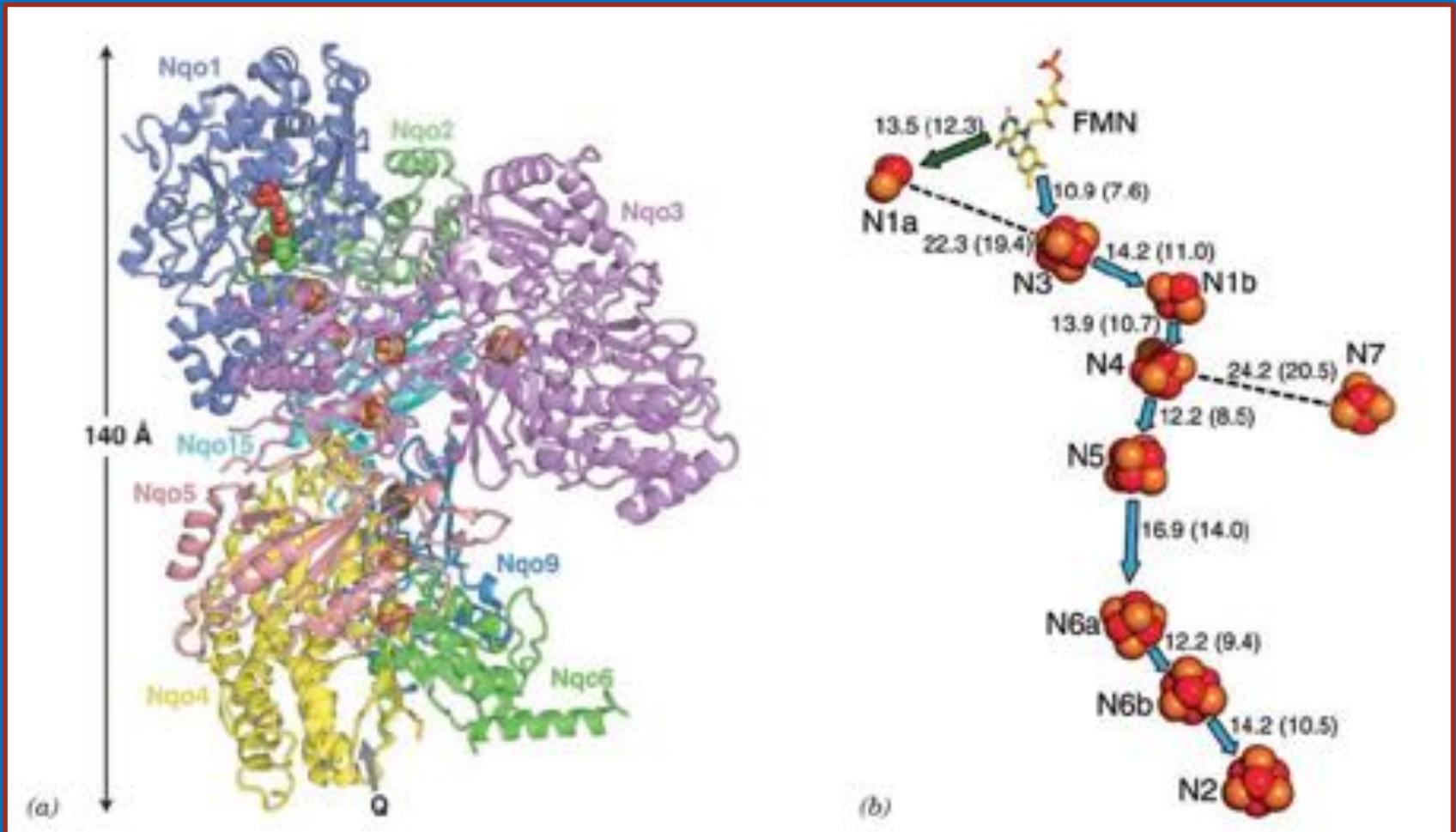
Os núcleos de Fe-Enxofre

- As proteínas transportadoras de elétrons contêm ainda núcleos Ferro-Enxofre (Fe-S).
- Esses núcleos são compostos átomos de Fe complexados a grupos -SH de cisteínas ou enxofre molecular.
- O ferro oscila entre Fe^{2+} e Fe^{3+} e **NÃO** transporta prótons (H^+).



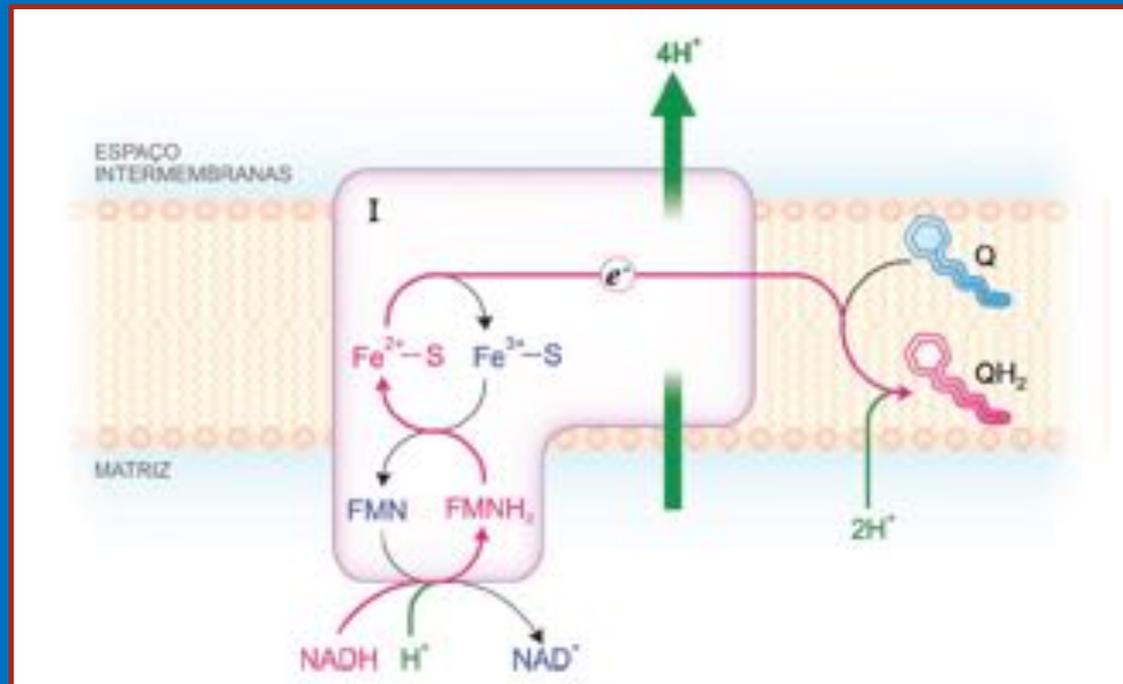
O complexo I é uma NADH desidrogenase

- O complexo I é a proteínas que regenera o NADH a NAD+.
- É um dos pontos de entrada da cadeia respiratória.

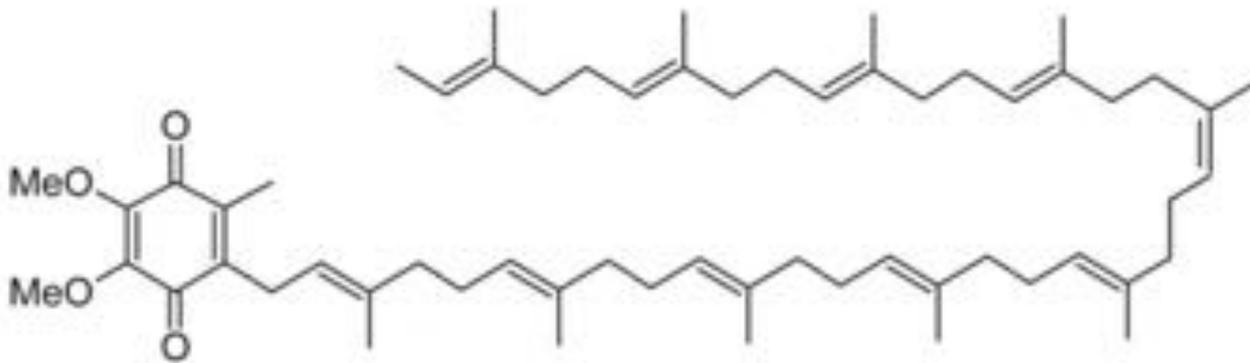


O complexo I bombeia prótons para a matriz mitocondrial

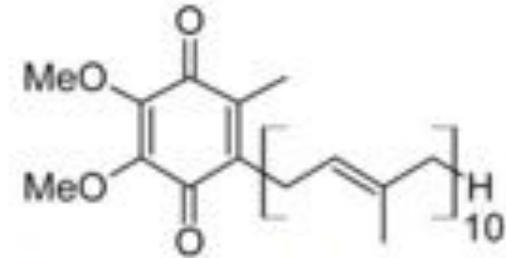
- O complexo I é uma NADH desidrogenase.
- Os elétrons e prótons do NADH são transferidos para o grupo FMN, que ao transferir para o núcleo de Fe-S, joga os prótons para a região intra-membranar mitocondrial.
- Os elétrons são então transferidos para a coenzima-Q (Ubiquinona).



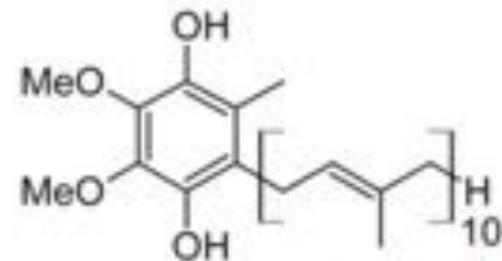
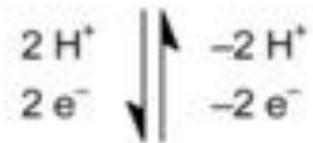
A ubiquinona (ou Coenzima Q) transporta os electróns do complexo I para o complexo III



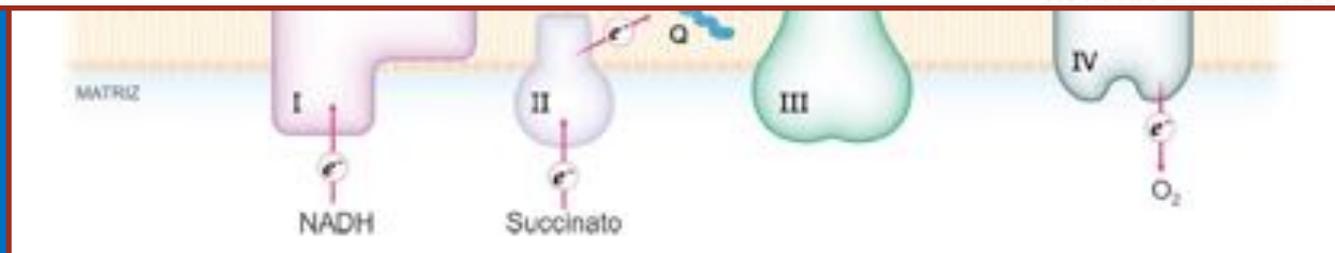
Co Enzyme Q10 (CoQ10)



Oxidized form of CoQ10 (Ubiquinone)

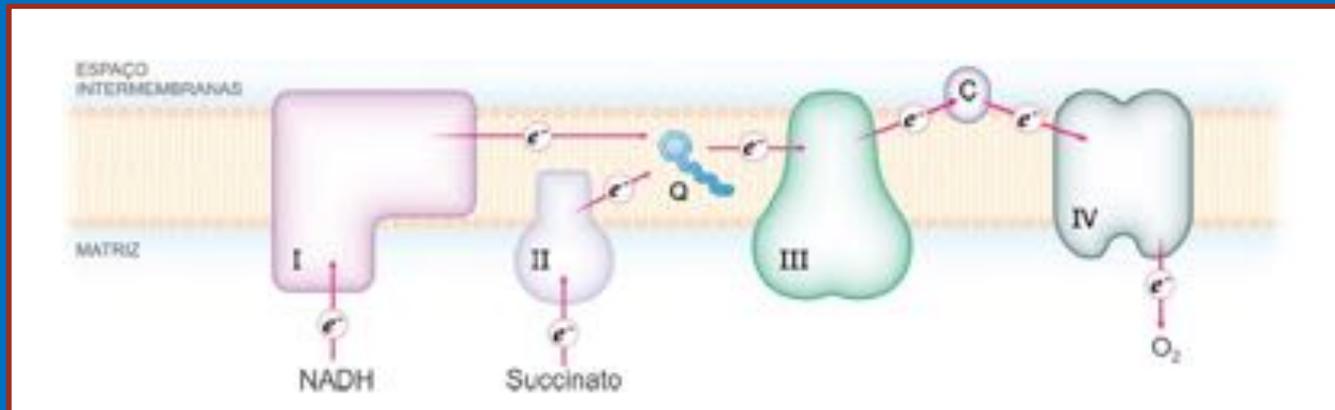
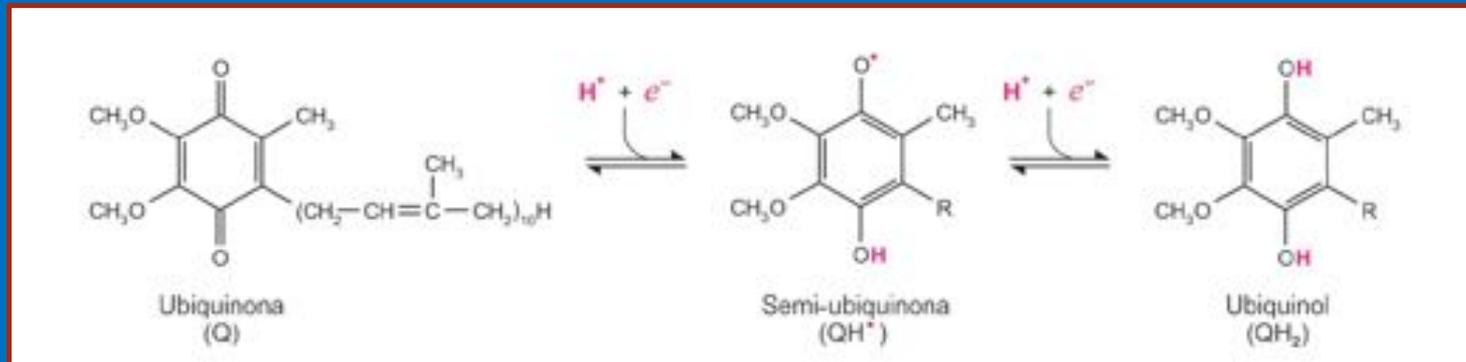


Reduced form of CoQ10 (Ubiquinol)



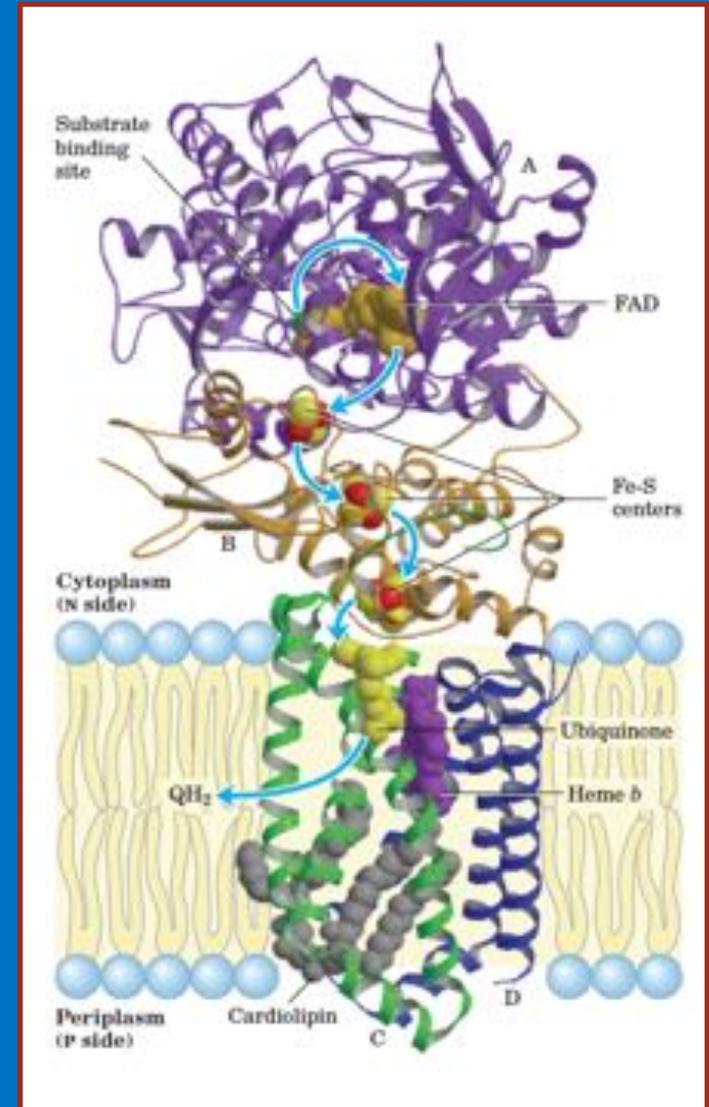
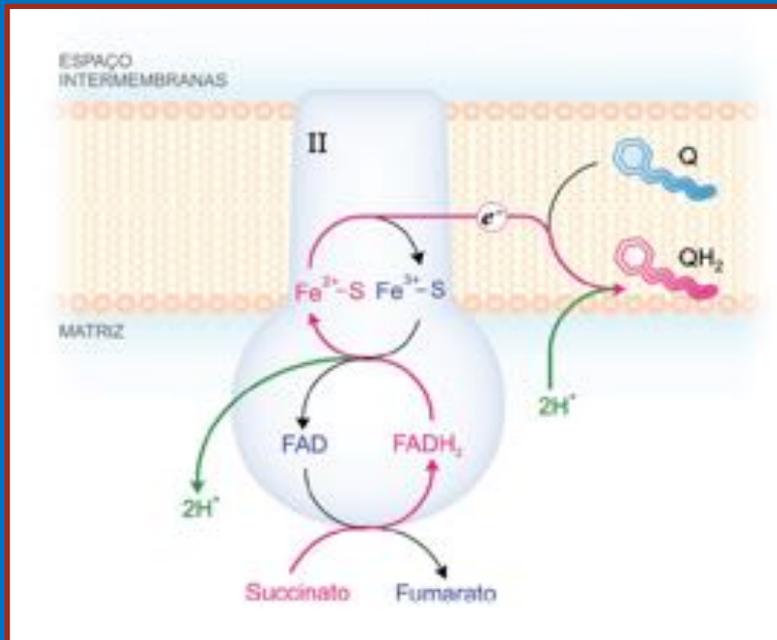
A ubiquinona (ou Coenzima Q) transporta os elétrons do complexo I para o complexo III

- A ubiquinona pertence a família das quinonas, contendo um número variável de unidades isoprênicas na cadeia lateral.
- Por isso, ela é altamente lipossolúvel, e pode transferir os elétrons e prótons através da membrana mitocondrial entre os complexos.



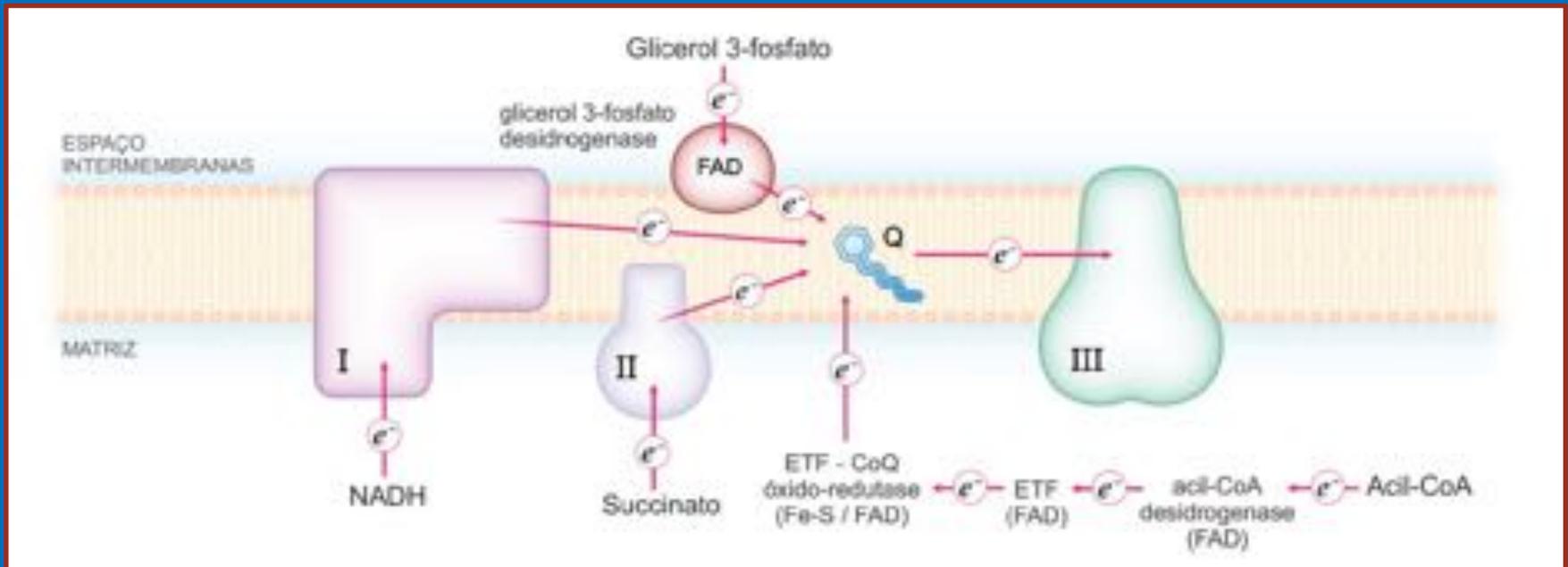
O succinato transfere os elétrons diretamente para o complexo II

- O complexo II é a succinato desidrogenase.
- Os elétrons do succinato são transferidos para o grupo FAD, em seguida por os centros de Fe-S e finalmente, para o grupo Heme, que os transfere para a ubiquinona (QH₂).
- O complexo II não transporta prótons.



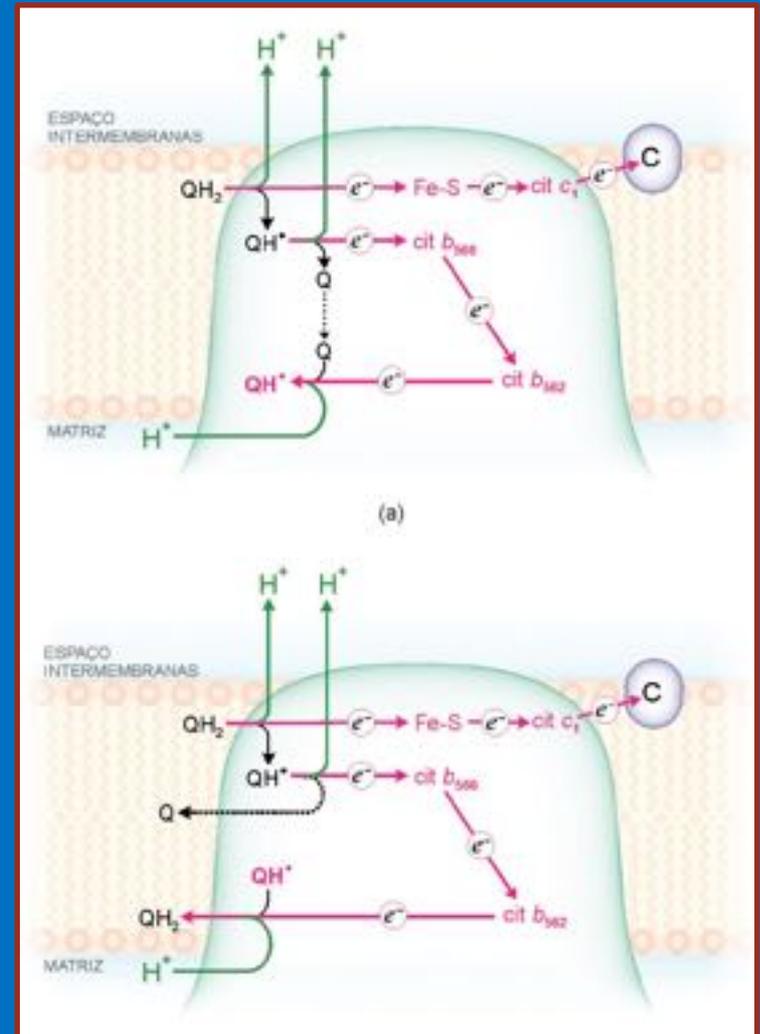
O complexo III recebem elétrons e prótons da ubiquinona

- O complexo III recebe todos os elétrons e prótons dos complexos I e II através da ubiquinona.
- Elétrons de outros centros (glicerol-3-fosfato desidrogenase e acil-CoA desidrogenase) também entram na cadeia transportadora de elétrons através do complexo III.



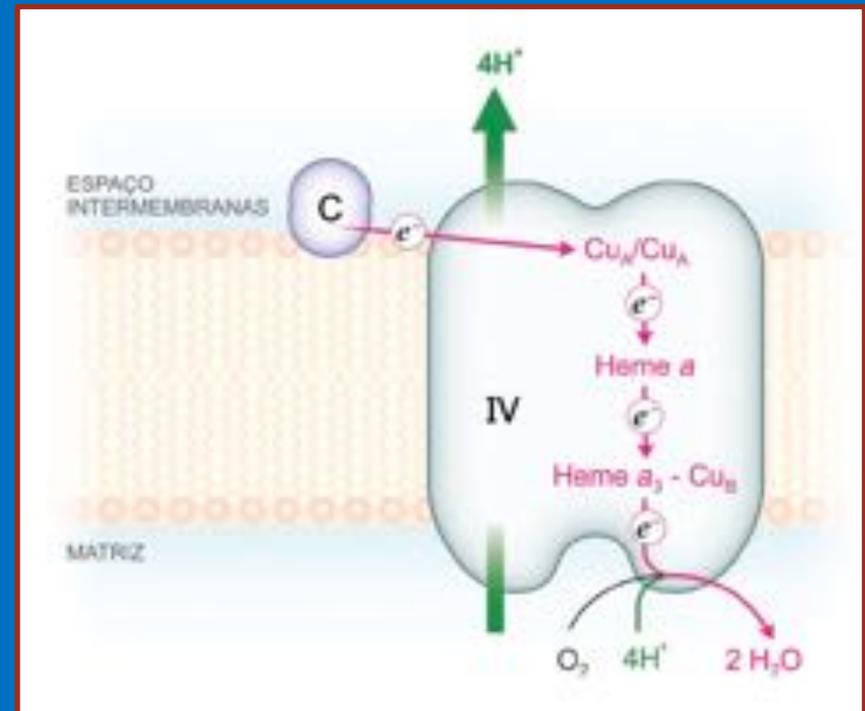
O complexo III transfere os elétrons para o citocromo c

- O complexo III transporta os elétrons através de grupos heme e núcleos de Fe-S para o citocromo c, translocando prótons (H^+) da matriz para a região intra-membranar da mitocôndria.
- Nesta processo, uma semi-quinona é formada ($QH\cdot$) como intermediária, que retorna para receber outro elétron de uma QH_2 .
- O resultado são 4 prótons bombeados da matriz para a região intra-membranar da mitocôndria para cada QH_2 .



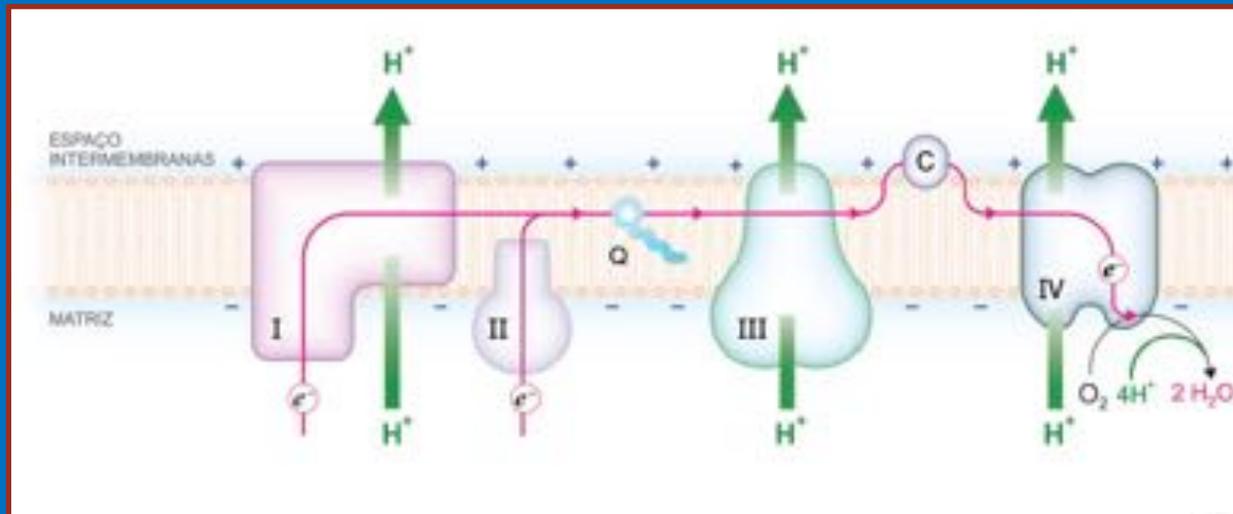
O complexo IV transfere os elétrons para o oxigênio

- Na etapa final, o elétron transportado pelo citocromo c é transferido para o complexo IV.
- O complexo IV contém além de grupos heme, um centro contendo Fe-Cu.
- O oxigênio serve como aceptor final para os elétrons, gerando H_2O e liberando mais 4 prótons (H^+) da matriz mitocondrial para a região intra-membranar.



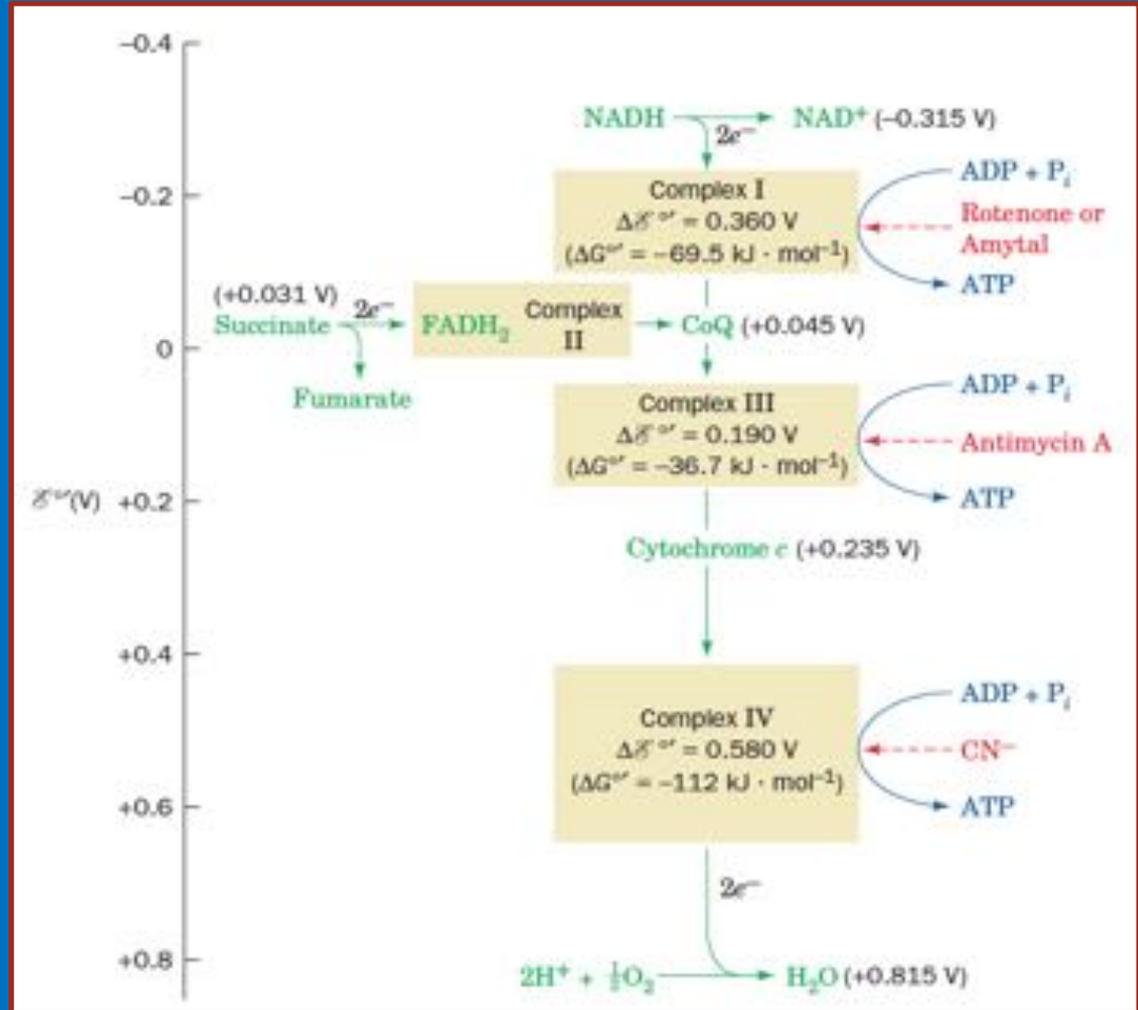
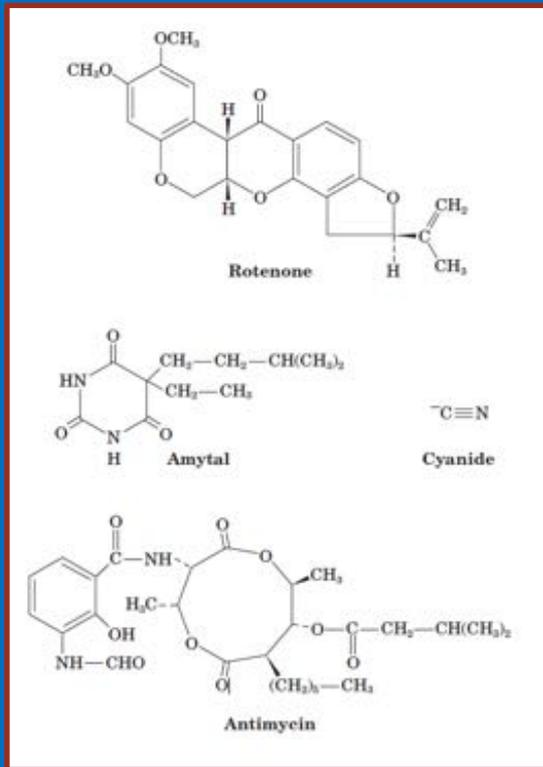
A cadeia transportadora de elétrons e prótons

- Em resumo, os elétrons provenientes da oxidação da glicose, aminoácidos e ácidos graxos são transferidos para a cadeia transportadora de elétrons pelo NADH.
- O complexo I é uma NADH desidrogenase, o complexo II é succinato desidrogenase (Krebs).
- Os elétrons do complexo I e II são todos coletados pelo complexo III através da coenzima QH₂.
- Elétrons provenientes no metabolismo de ácidos graxos e do glicerol, também entram na cadeia transportadora diretamente através da coenzima QH₂.
- Os complexos I, III e IV translocam prótons de dentro da mitocôndria da matriz para a região intra-membranar da mitocôndria.



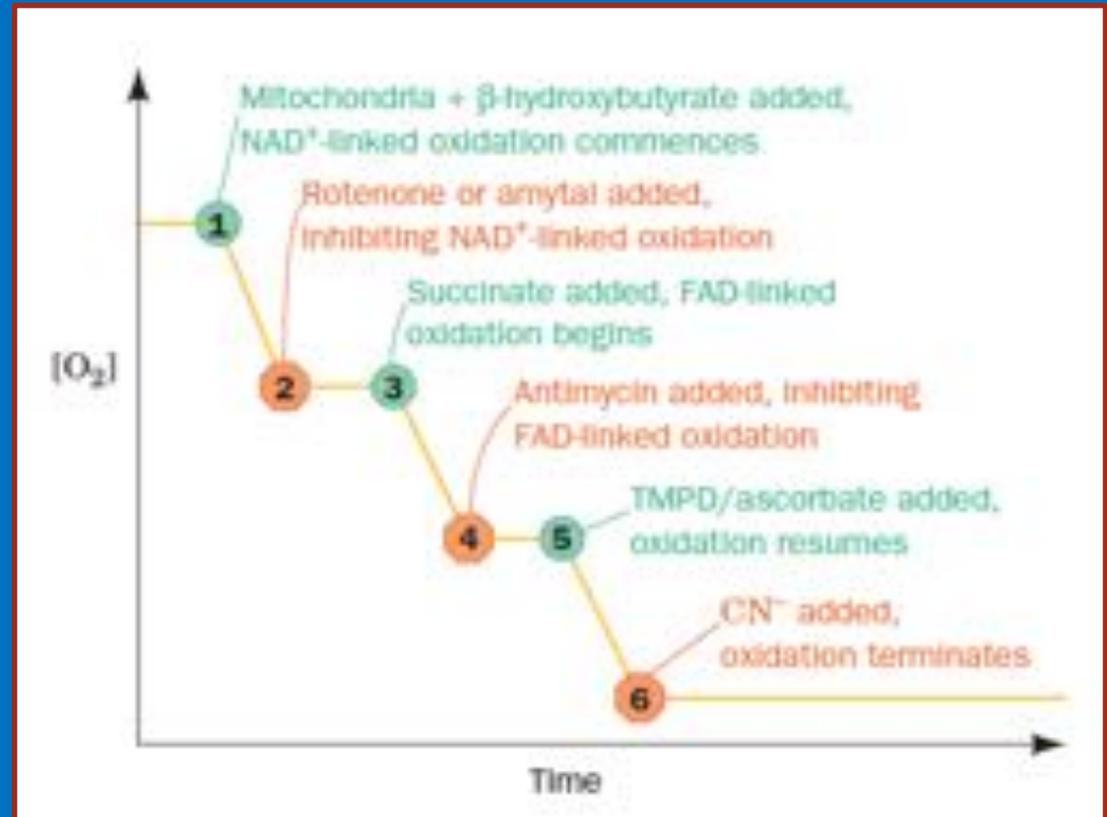
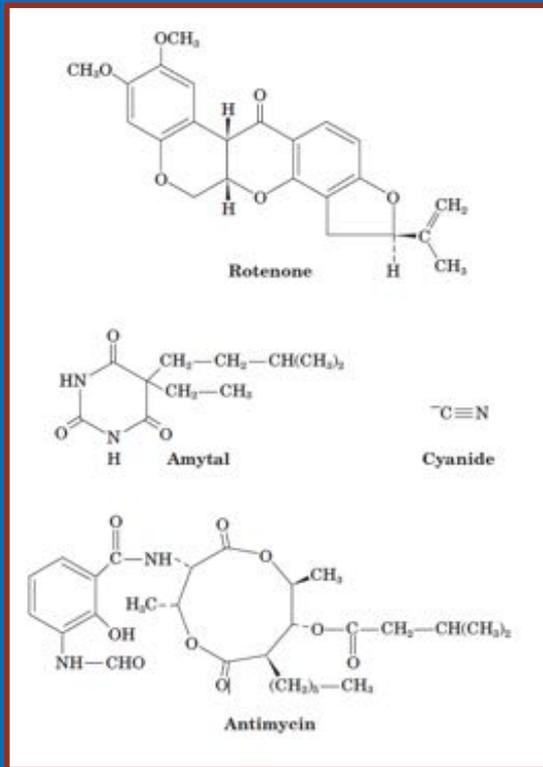
Inibidores da cadeia transportadora de elétrons e prótons

- Muito do que conhecemos hoje sobre a cadeia transportadora de elétrons se devem ao inibidores do processo.



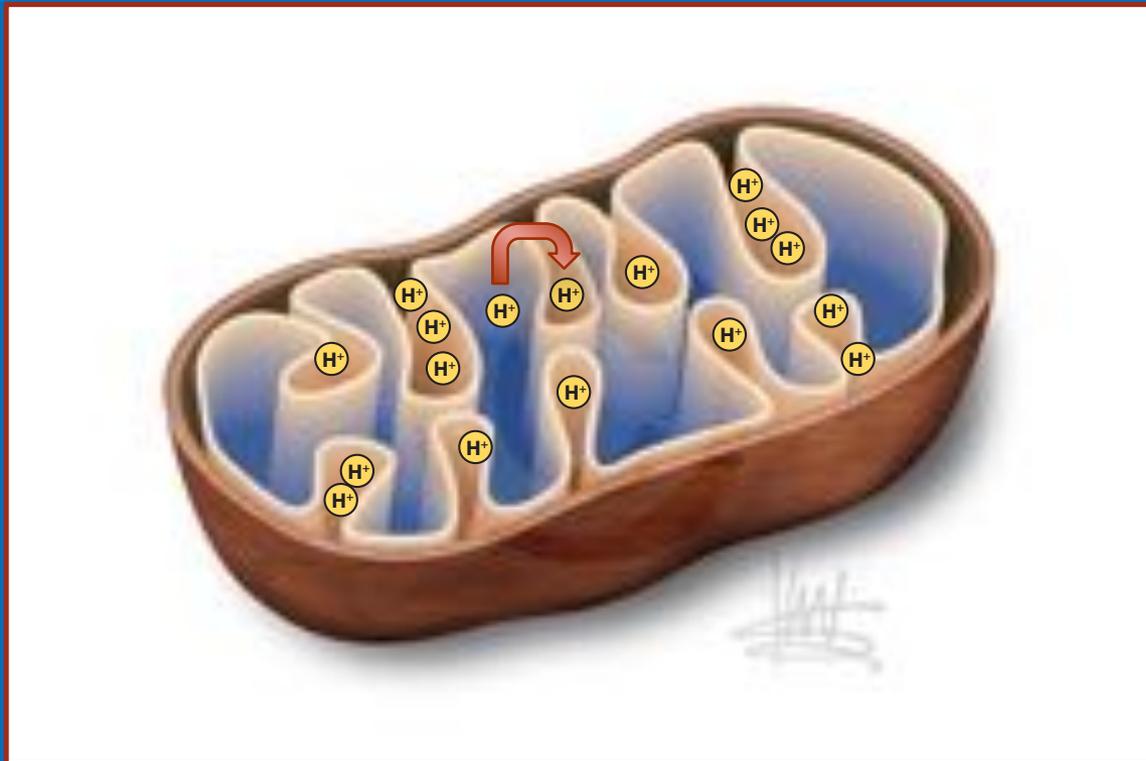
Inibidores da cadeia transportadora de elétrons e prótons

- Muito do que conhecemos hoje sobre a cadeia transportadora de elétrons se devem ao inibidores do processo.



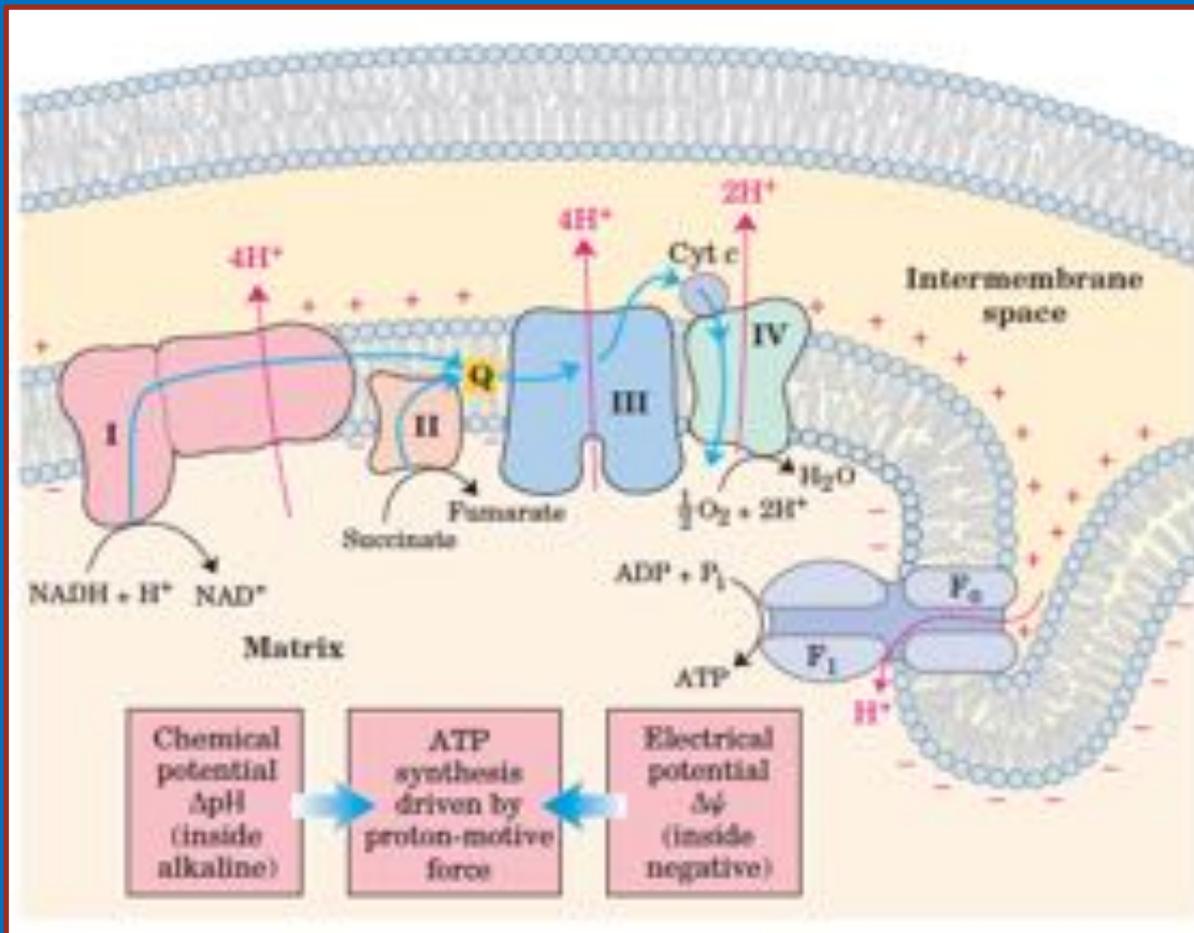
O transporte de elétrons bombeia prótons da matriz para a região intra-membranar da mitocôndria

- O acúmulo de prótons na membrana interna da mitocôndria gera um gradiente que pode ser utilizado para a produção de ATP.
- Como?



ATP sintase e a teoria quimiosmótica

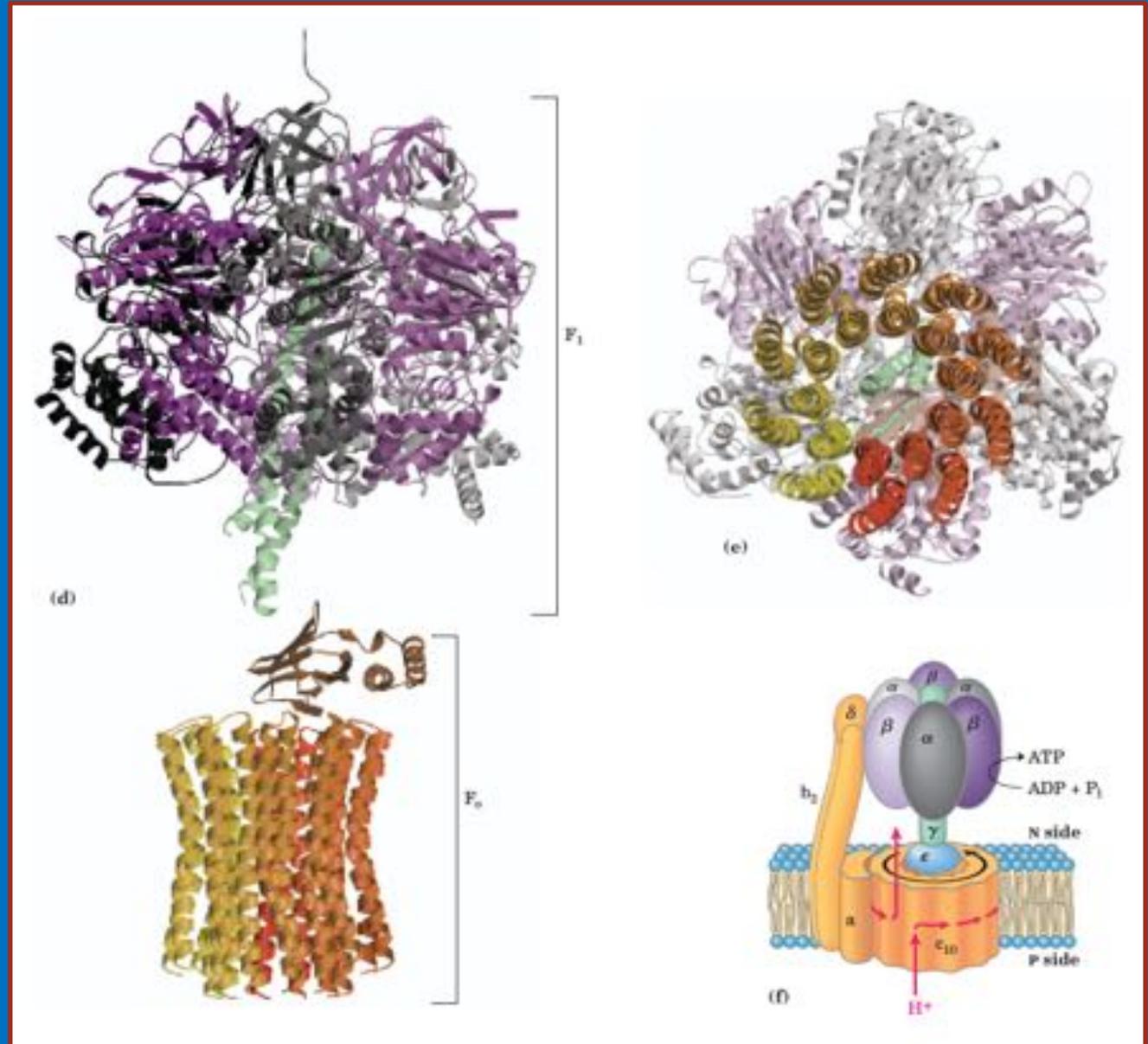
- O gradiente de prótons entre as membranas cria uma força motriz.
- Os prótons retornam à matriz mitocondrial através de um transportador chamado de ATP sintase.
- Ao passarem pela ATP sintase, a energia do gradiente é transferida para a síntese do ATP.



Peter Mitchell,
1920–1992

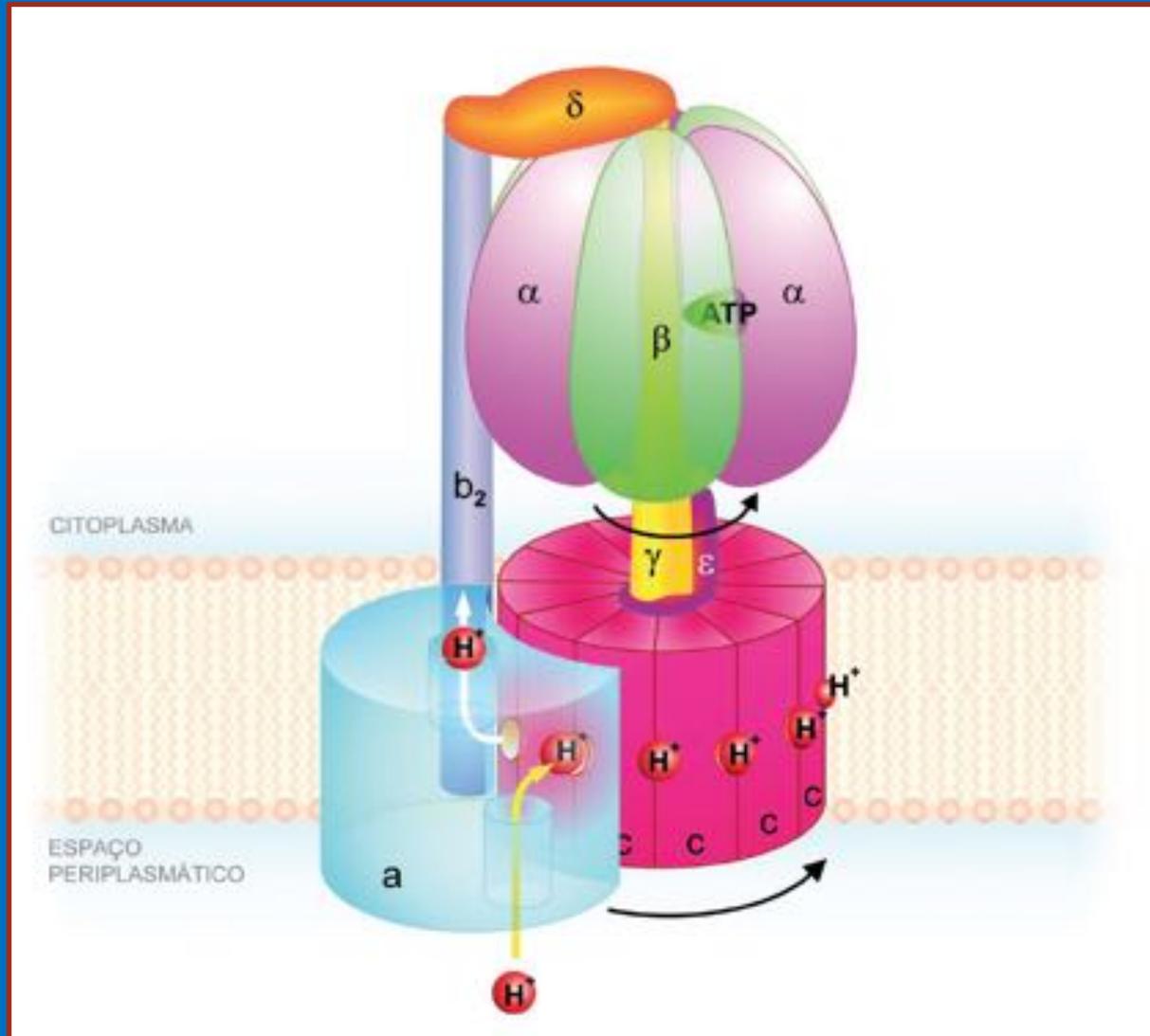
A ATP sintase

- A ATP sintase é composta das subunidades Fo e F₁.
- A unidade Fo liga prótons e os transfere da região intra-membranar para a matriz mitocondrial.
- A cada próton que entra e sai, corresponde uma rotação na subunidade Fo.
- O movimento muda a conformação da subunidade F₁, favorecendo a síntese de ATP.



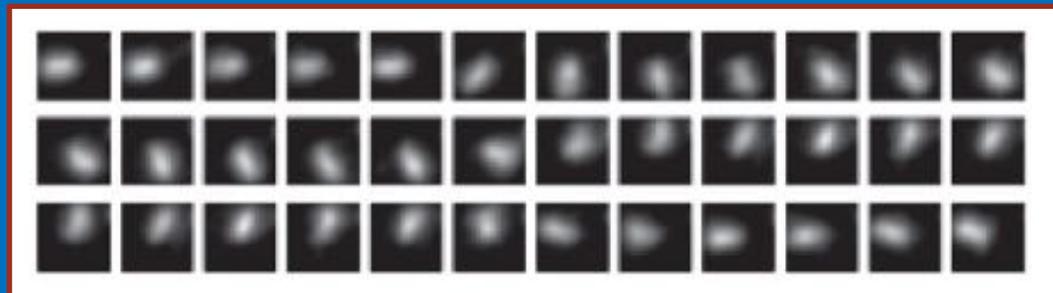
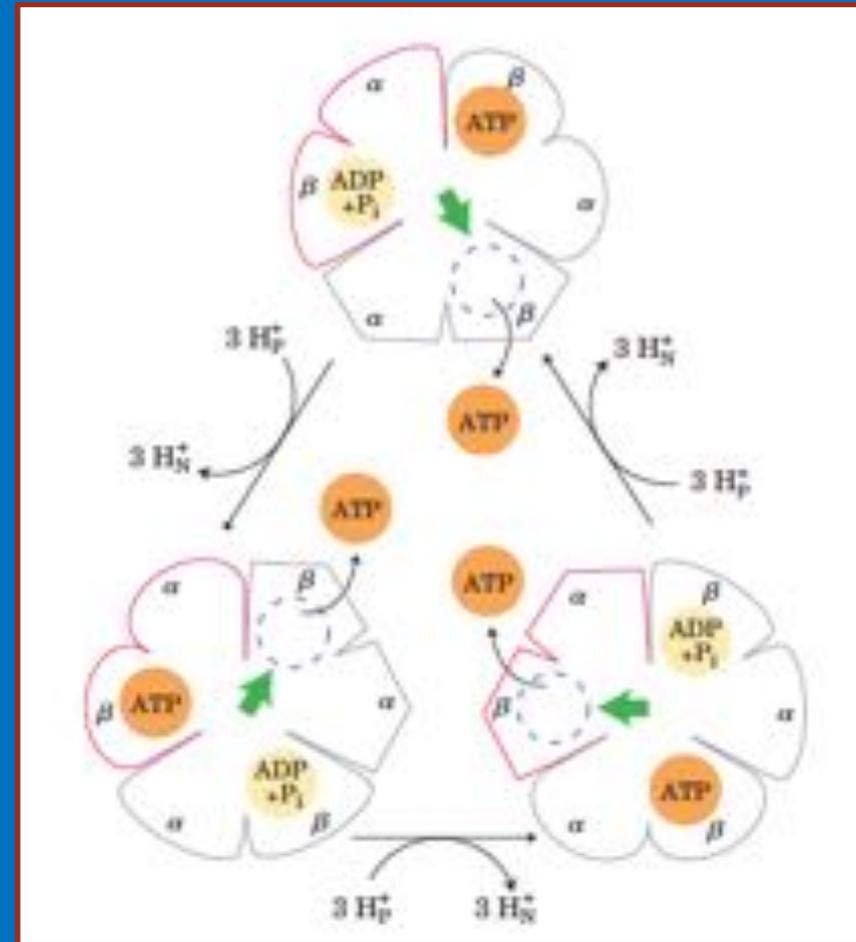
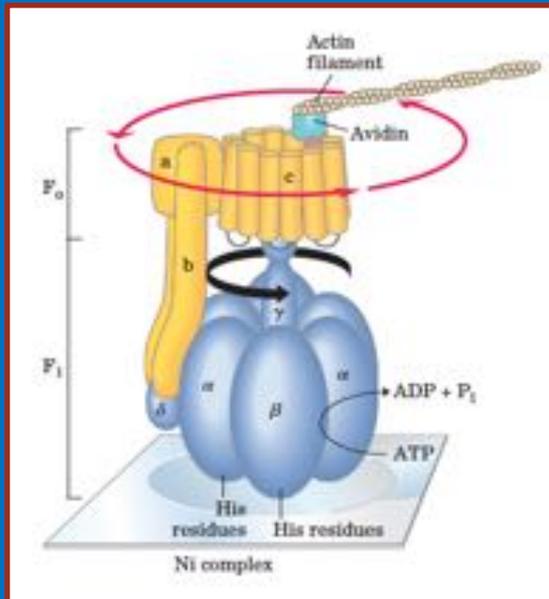
A ATP sintase

- A ATP sintase é composta das subunidades Fo e F₁.
- A unidade Fo liga prótons e os transfere da região intra-membranar para a matriz mitocondrial.
- A cada próton que entra e sai, corresponde uma rotação na subunidade Fo.
- O movimento muda a conformação da subunidade F₁, favorecendo a síntese de ATP.



ATP sintase e a síntese de ATP

- A porção F₁ liga ADP + P_i ou ATP com alta afinidade.
- As três subunidades se alternam em conformação com afinidade por ADP + P_i, ATP ou vazias.



Rendimento da oxidação da glicose

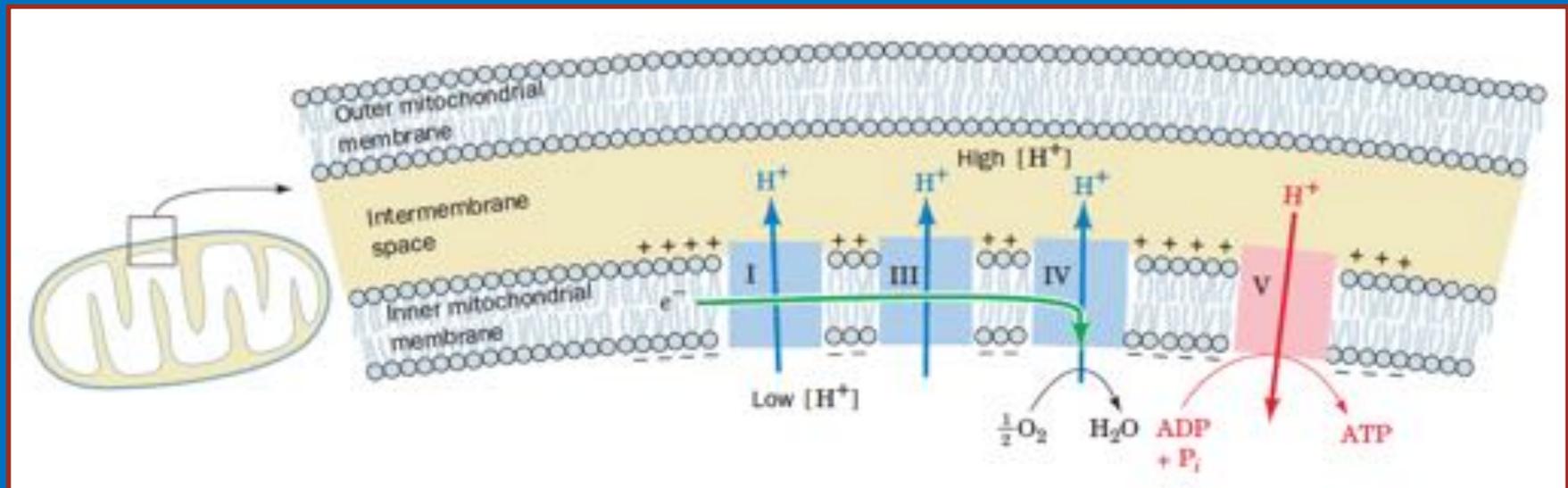
- Como vimos, durante a via glicolítica, temos a produção de duas moléculas de ATP por unidade de glicose.
- Mais duas moléculas de ATP são produzidas durante o ciclo de Krebs (1 para cada piruvato).
- Antes da teoria quimiosmótica, acreditava-se que a estequiometria da produção de ATP obedecesse uma equação do tipo:
 - $x\text{ADP} + x\text{P}_i + \frac{1}{2}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{NADH} \longrightarrow x\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$ ($x = \text{número inteiro}$)
- Porém, hoje sabemos que este número não é necessariamente inteiro.

Process	Direct product	Final ATP
Glycolysis	2 NADH (cytosolic)	3 or 5*
	2 ATP	2
Pyruvate oxidation (two per glucose)	2 NADH (mitochondrial matrix)	5
Acetyl-CoA oxidation in citric acid cycle (two per glucose)	6 NADH (mitochondrial matrix)	15
	2 FADH ₂	3
	2 ATP or 2 GTP	2
Total yield per glucose		30 or 32

*The number depends on which shuttle system transfers reducing equivalents into the mitochondrion.

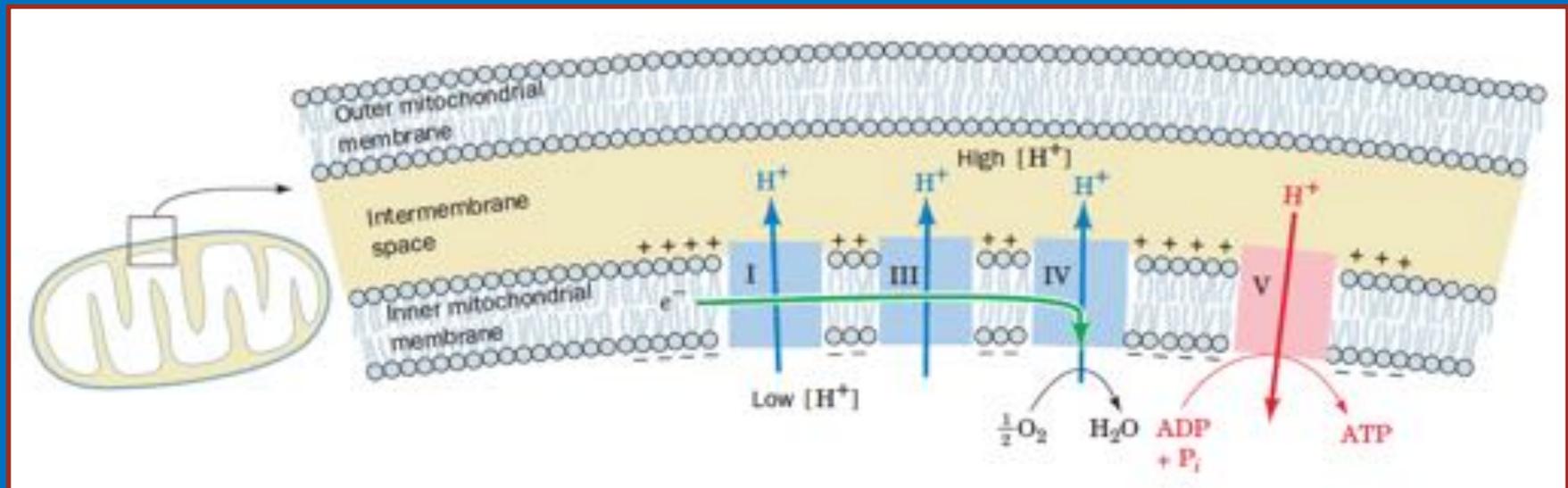
A teoria quimiosmótica: a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP

- A relação entre o potencial químico e a energia livre do sistema depende da equação:
 - $\Delta G = 2.3 RT [\text{pH}(\text{in}) - \text{pH}(\text{out})] + Z F \Delta\psi$ $Z = \text{carga do próton}; F = \text{constante Faraday}$
- O potencial de membrana da mitocôndria sintetizando ATP é de 0.163V. Isto corresponde a ~210.000 V/cm.
- A diferença de pH entre a membrana interna e externa é de 1.75 unidade de pH.



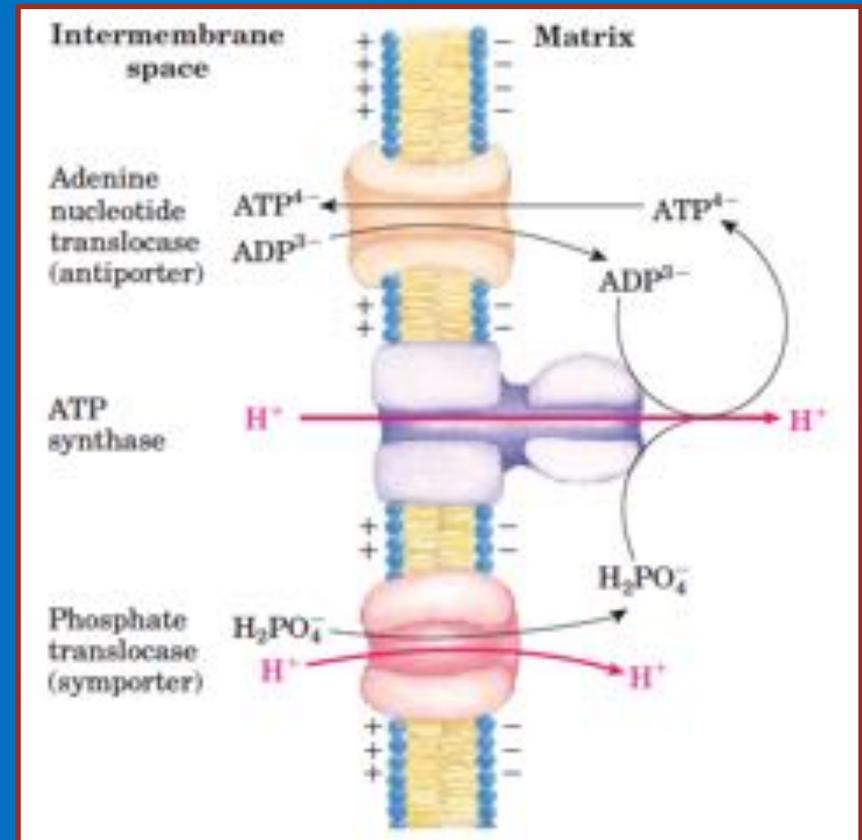
A teoria quimiosmótica: a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP

- Assim, o ΔG calculado para o transporte de H^+ pela membrana é de +21.5 kJ/mol.
- A síntese do ATP em condições fisiológicas requer entre 40 e 50 kJ/mol.
- Desta forma, a energia de 2 ou 3 prótons seria necessária para sintetizar 1 molécula de ATP.



O transporte de ATP

- A membrana interna da mitocôndria é impermeável ao ATP, ADP e fosfato (Pi).
- O ATP produzido se encontra dentro da matriz mitocondrial.
- Porém, a maioria dos processos que utilizam energia ocorrem fora da mitocôndria, por exemplo, no citossol.
- O ATP é transferido para o citossol por um co-transportador antiporte ATP/ADP.
- Fosfato inorgânico (Pi) é co-transportado simporte (Pi/H+).



Inibidores da cadeia respiratória e síntese de ATP

- Há drogas capazes de inibir cada um dos componentes do transporte de elétrons.
- Todas têm o mesmo resultado final, a interrupção do fluxo de elétrons e do transporte de prótons para a região intramembranar.
- Isto porque, quando um complexo fica inibido, ele não apenas para de transportar elétrons, mas também de recebê-los. Por isso, toda a cadeia é interrompida.

Inibidores	Complexo
Barbituratos	I
Rotenona (inseticida)	I
Malonato (succinato desidrogenase)	II
Antimicina A (antibiótico)	III
Cianeto (CN ⁻), Monóxido de carbono (CO), azida (N ₃ ⁻)	IV
Oligomicina (antibiótico)	ATPase

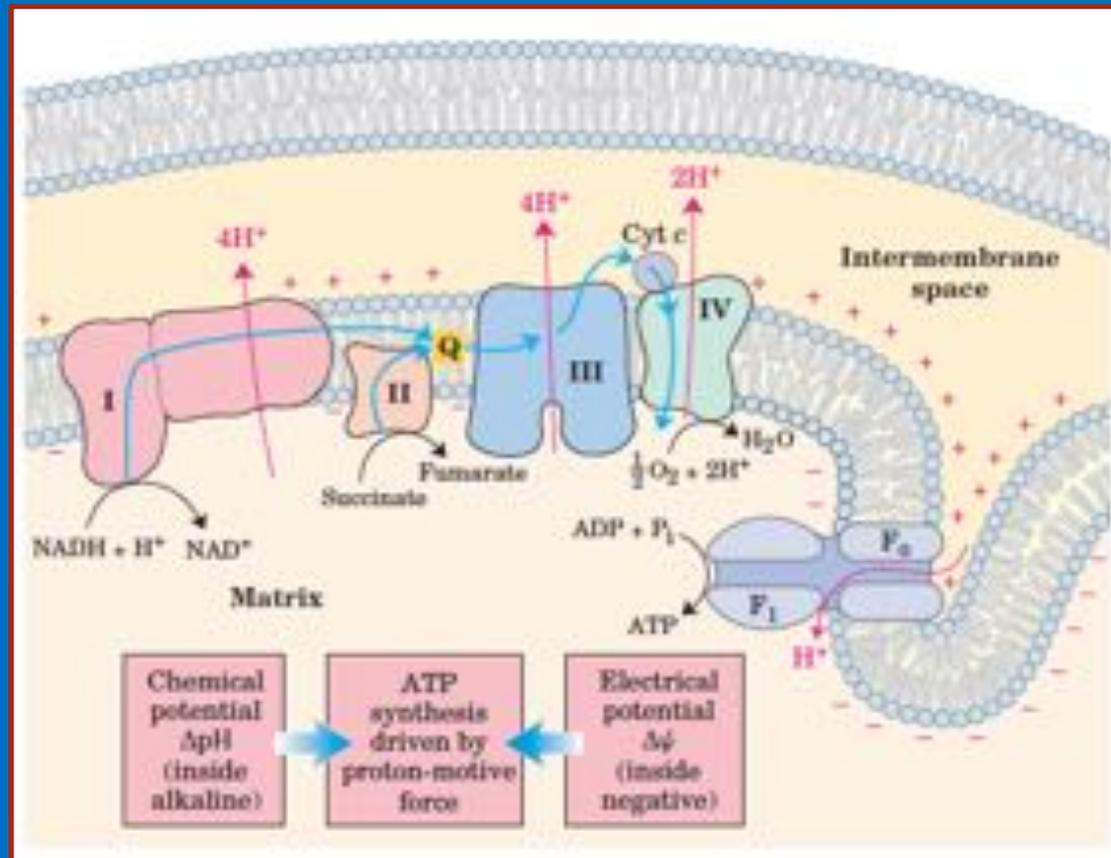
Inibidores da cadeia respiratória e síntese de ATP

- A oligomicina é um antibiótico inibidor da ATP sintase.
- Ele se liga a subunidade Fo, impedindo o transporte de prótons.
- Com isso, o gradiente não pode ser aliviado, aumentando até inibir o transporte de elétrons.

Inibidores	Complexo
Barbituratos	I
Rotenona (inseticida)	I
Malonato (succinato desidrogenase)	II
Antimicina A (antibiótico)	III
Cianeto (CN ⁻), Monóxido de carbono (CO), azida (N ₃ ⁻)	IV
Oligomicina (antibiótico)	ATP sintase

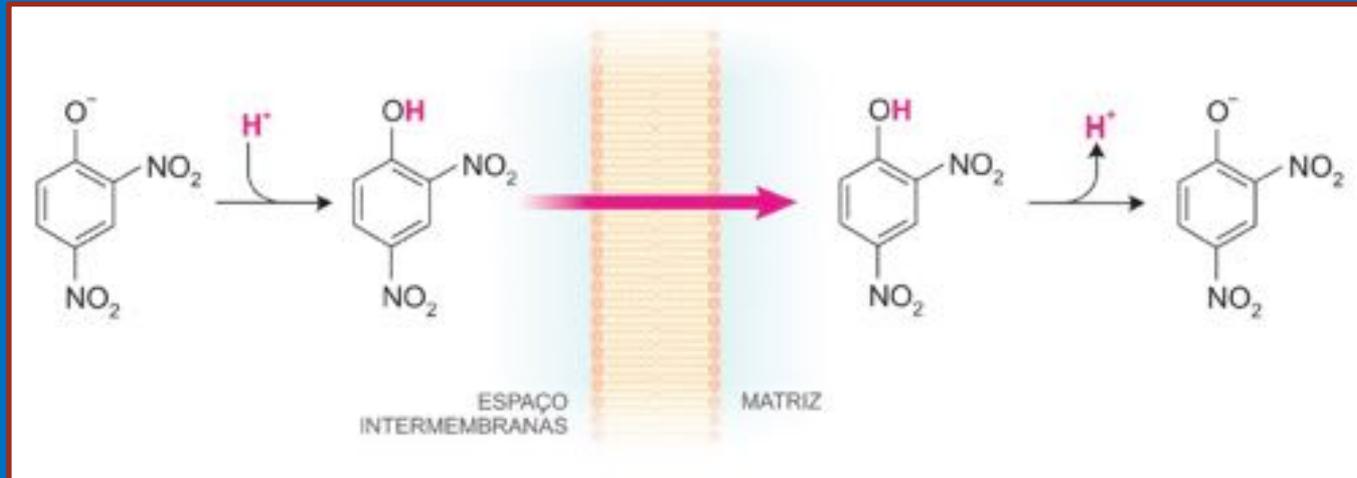
A síntese de ATP e a cadeia respiratória estão acopladas

- A inibição do transporte de elétrons inibe a síntese de ATP, como esperado.
- Porém, a inibição da síntese de ATP, também inibe o transporte de elétrons.
- Por isso, dizemos que a cadeia respiratória e a síntese de ATP estão ACOPLADAS.

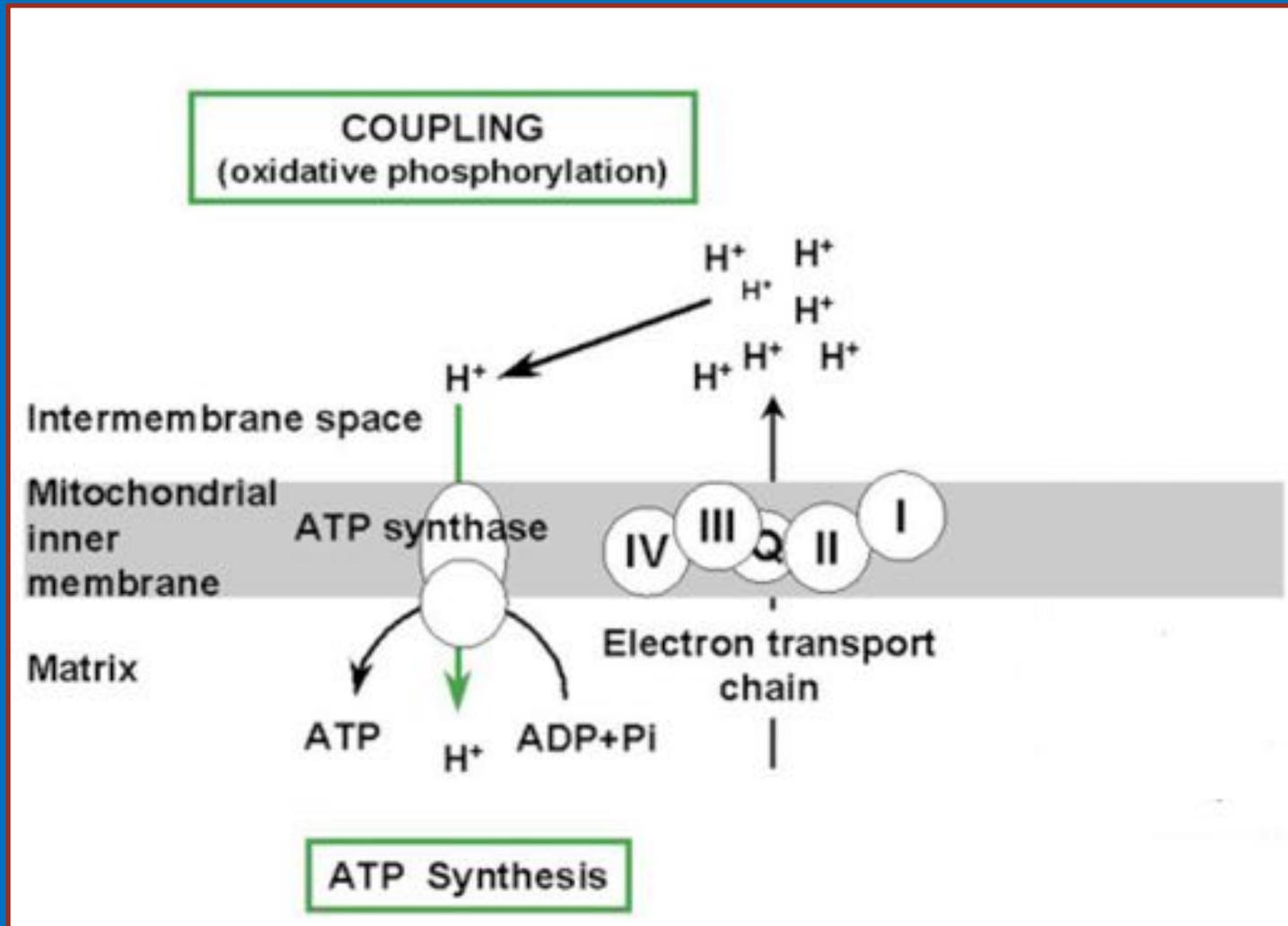


Desacopladores

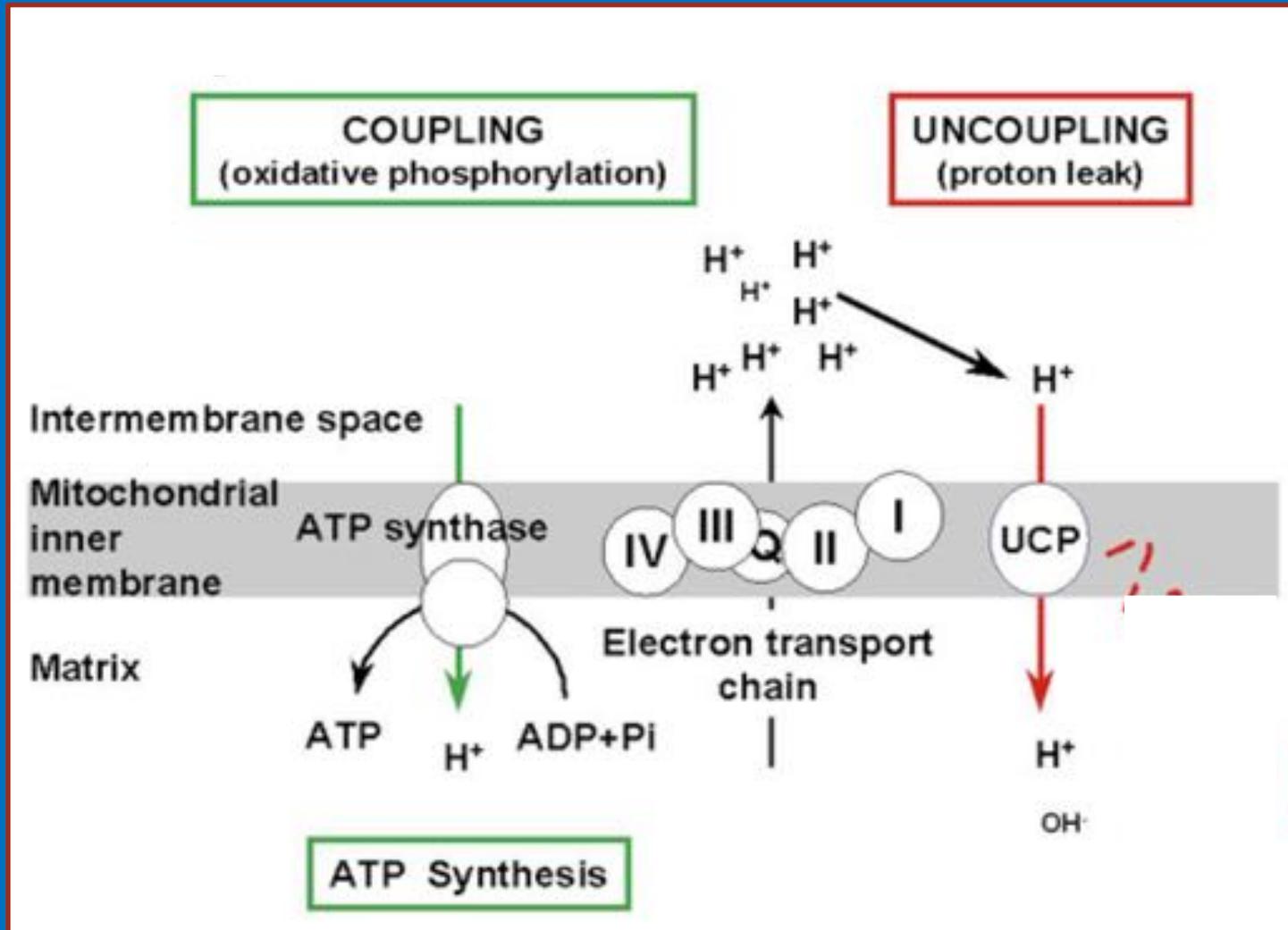
- O 2,4-dinitrofenol (DNP, dinitrofenol) é uma pequena molécula capaz de atravessar a membrana da mitocôndria.
- O DNP é um composto fenólico que por causa da ressonância do anel aromático, permite a dissociação do hidrogênio da hidroxila.
- Por isso, o DNP é capaz de "transportar" prótons através da membrana mitocondrial e, assim, desfazer o gradiente.
- Com isso, a síntese de ATP é interrompida, sem que a cadeia transportadora de elétrons seja afetada.
- Moléculas com essas propriedades são chamadas de desacopladores.



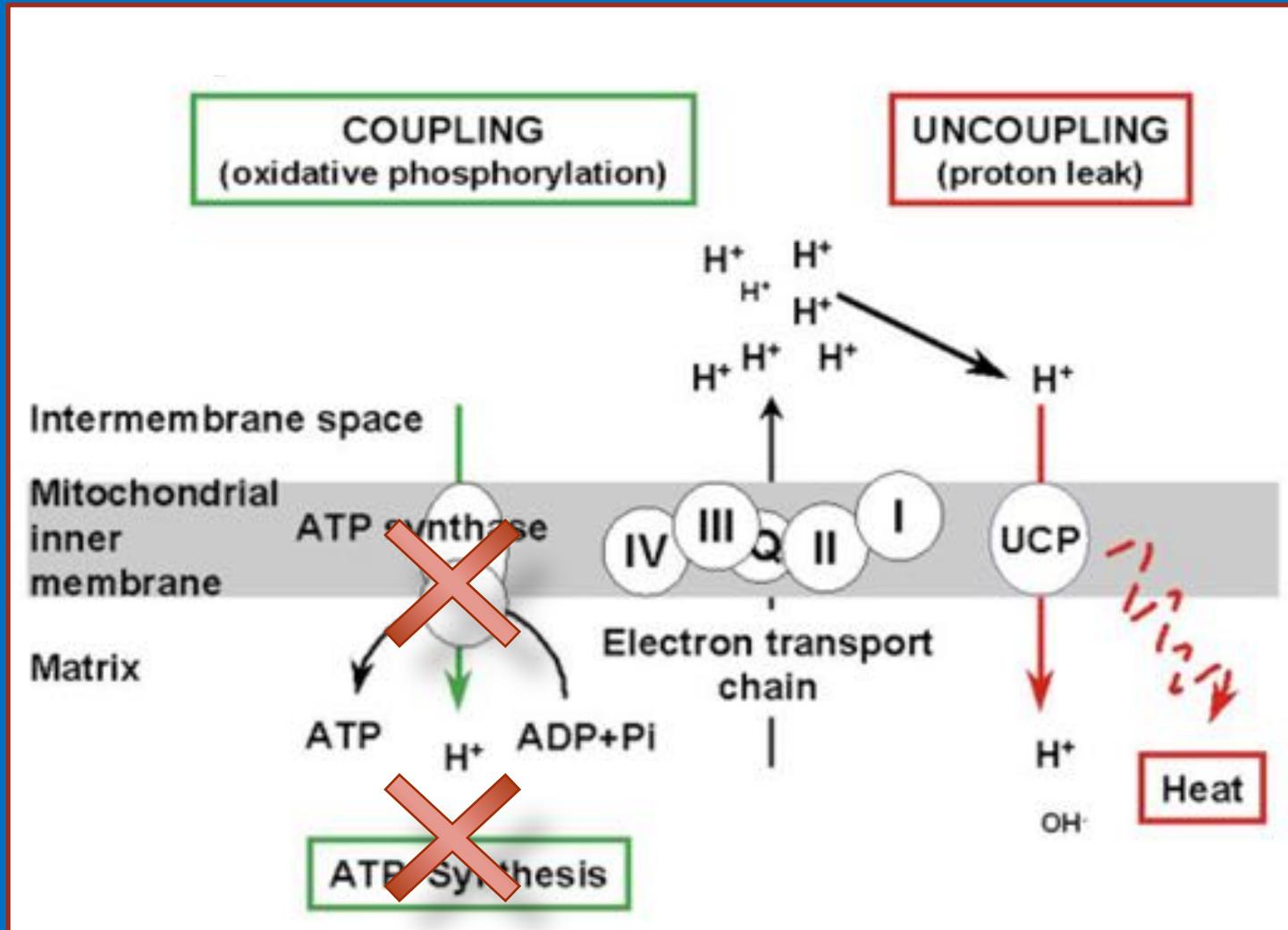
Desacopladores



Desacopladores

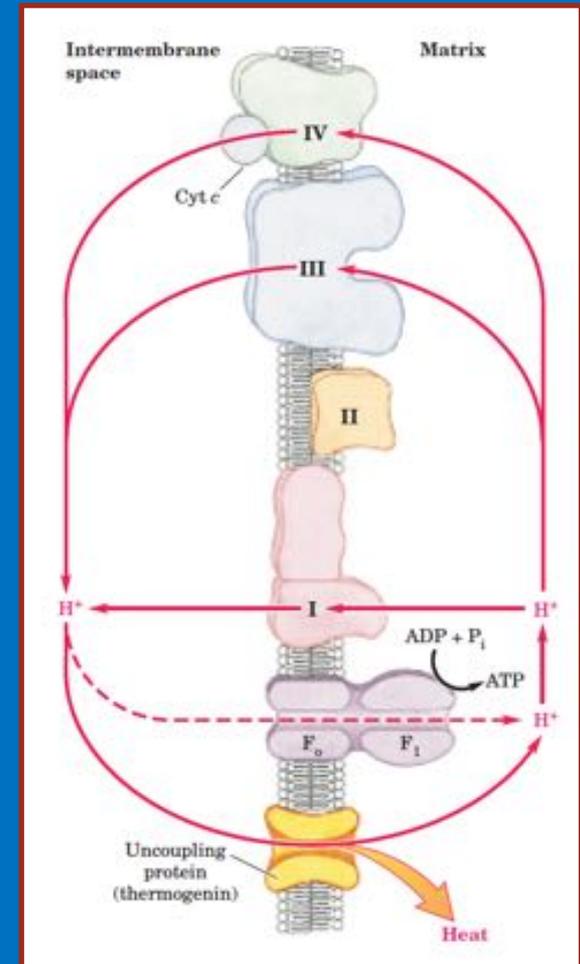
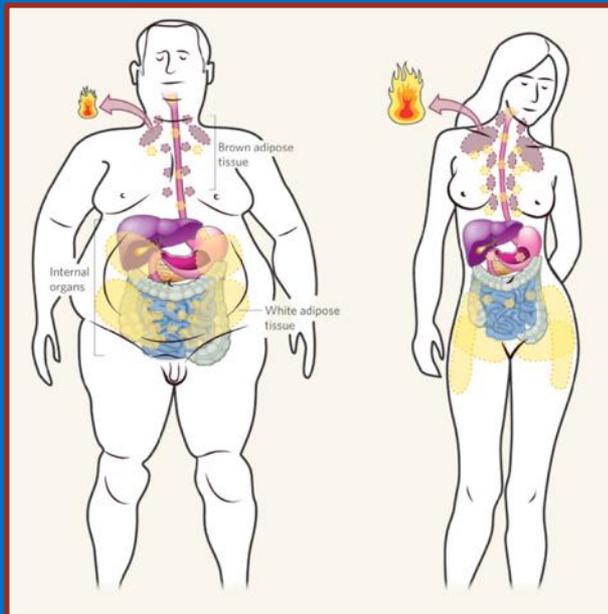


Desacopladores



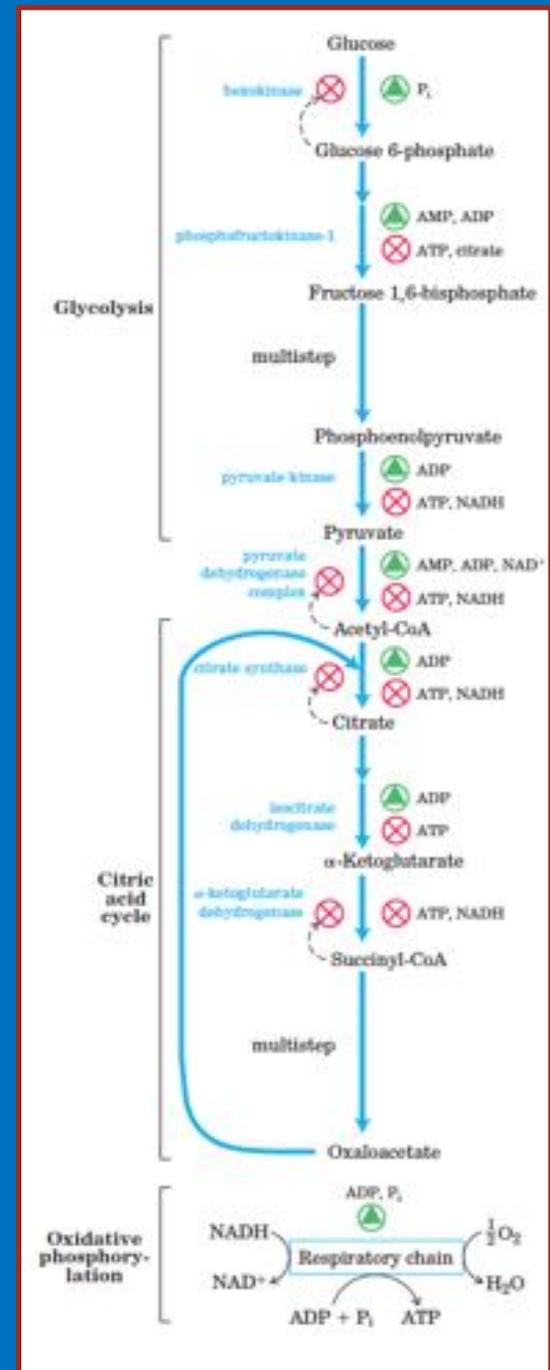
Desacopladores naturais

- Mamíferos, incluindo humanos, apresentam um tecido adiposo rico em mitocôndrias especializado em gerar calor.
- Este tecido adiposo marrom desacopla o transporte de elétrons da síntese de ATP.
- O resultado é que a energia acumulada no transporte de H^+ é dissipado sob a forma de calor.
- O tecido adiposo marrom é mais abundantes nos jovens e nas mulheres.



Regulação do transporte de e^- e síntese de ATP

- Como vimos, o transporte de elétrons e a síntese de ATP são acoplados.
- A concentração de ADP regula a velocidade da ATP sintase.
- Com pouco ADP (e muito ATP) a relação $[ATP]/[ADP]$ é alta.
- A relação $[ATP]/[ADP]$ é o principal fator que regula a cadeia transportadora de elétrons e a síntese de ATP.
- Se a ATP sintase diminui a reduz sua atividade, a velocidade no transporte de elétrons também é reduzida.
- Isto faz com que a relação $[NADH]/[NAD^+]$ aumente.
- Consequentemente, a velocidade do ciclo de Krebs diminui por inibição das enzimas α -cetoglutarato desidrogenase, citrato sintase e piruvato desidrogenase.



Videos

- <https://www.youtube.com/watch?v=PjdPTY1wHdQ>
- https://www.youtube.com/watch?v=b_cp8MsnZFA
- <https://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>
- <https://www.youtube.com/watch?v=rdF3mnyS1po>
- <https://www.youtube.com/watch?v=QeHCAFKaWM8>

Bibliografia

- Lehninger, Princípios de bioquímica, 5ed, Capítulo 19, Fosforilação oxidativa.
- Marzozoco e Torres, Bioquímica básica, 3ed, Capítulo 11, Cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.
- Voet & Voet, Bioquímica, 4ed.