

Fosforilação Oxidativa

ATPsintase

Uso diário de ATP	g ATP / g tecido
Coração	16,0
Cérebro	6,0
Rins	24,0
Fígado	6,0
Musculo Esquelético (repouso)	0,3
Musculo Esquelético (correndo)	23,6

ATP- Curiosidades

Geralmente não é sintetizado *de novo*

Sempre obtido por reciclagem de ADP (quantidade de ATP + ADP permanece constante)

Quantidade total de ATP + ADP no organismo – 100g

Indivíduo em repouso – 40 kg de ATP em 24 horas

Esforço vigoroso – 0,5 kg/ minuto

Corrida de 2 h – 60 kg de ATP

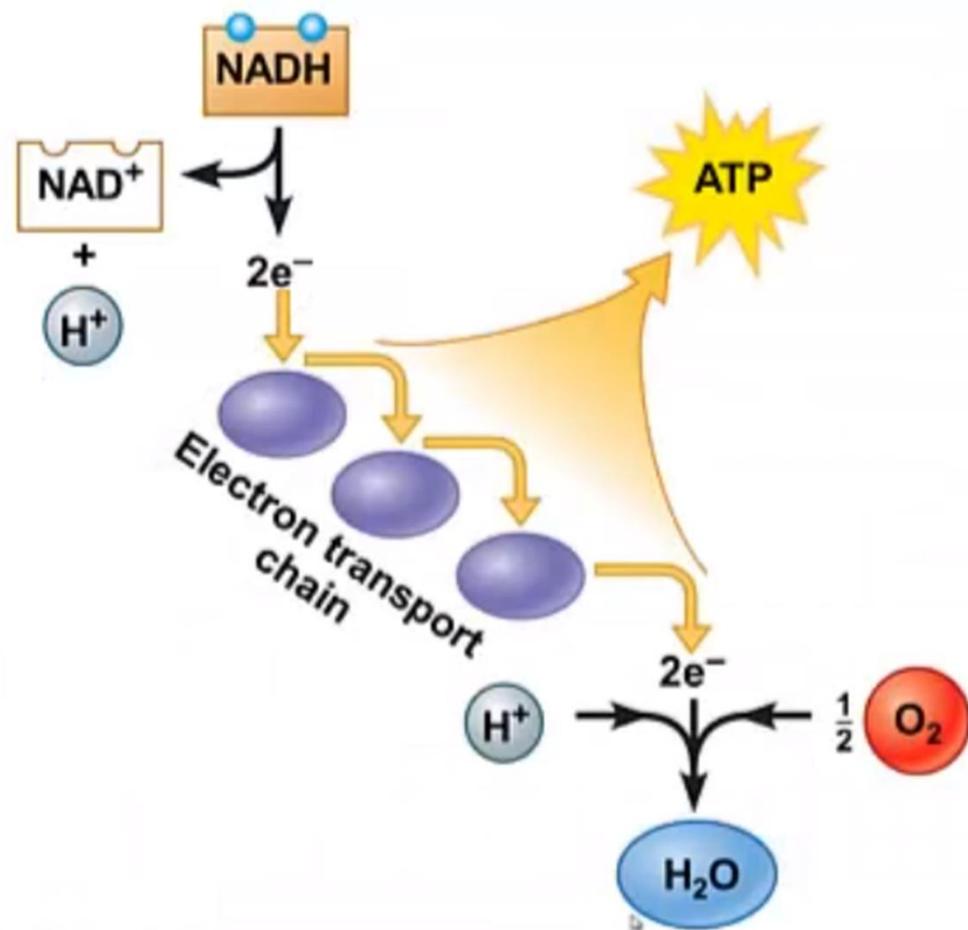




Figura 18.39 Controle respiratório. Os elétrons são transferidos para O_2 apenas se ADP for concomitantemente fosforilado a ATP.

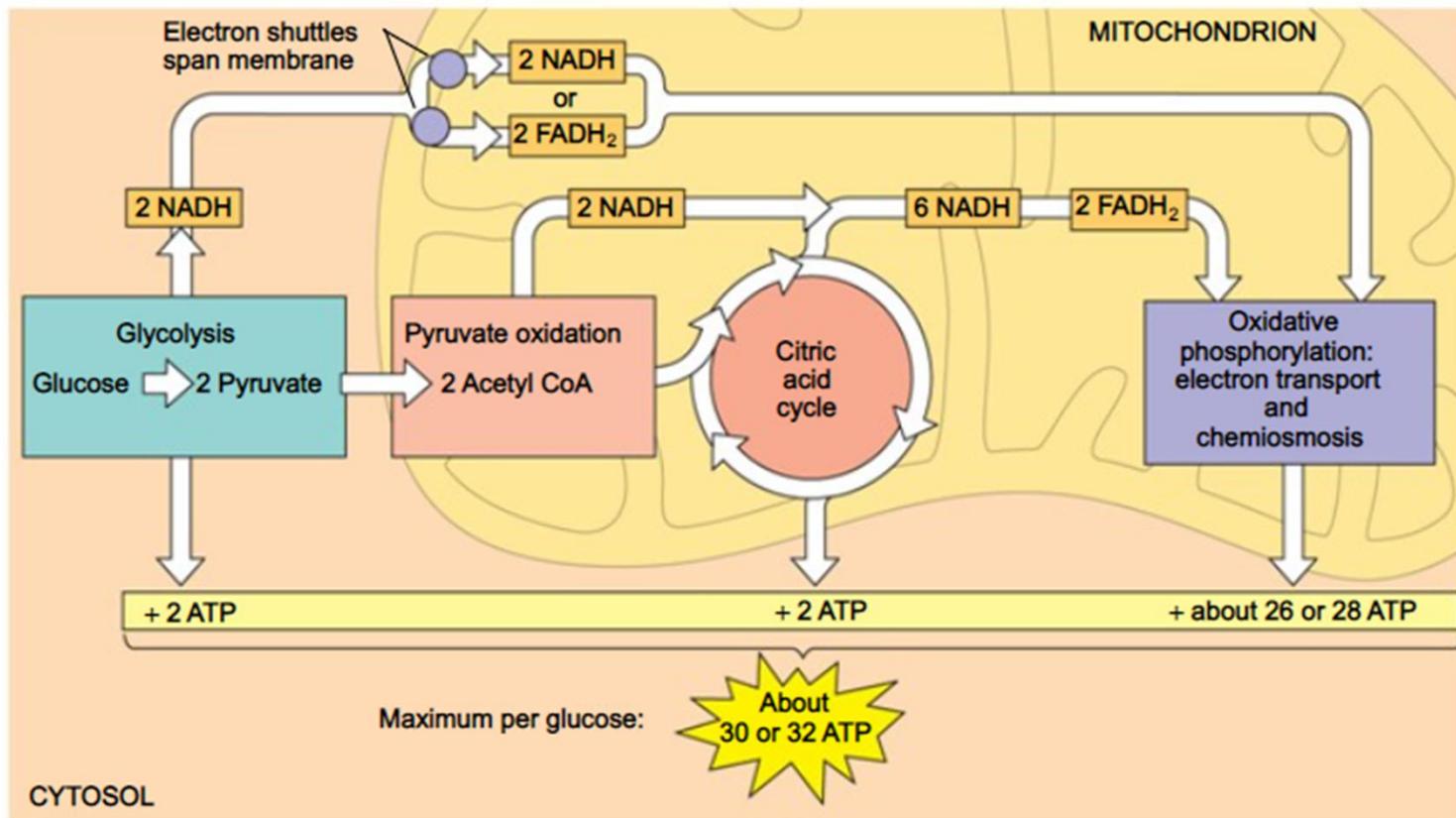
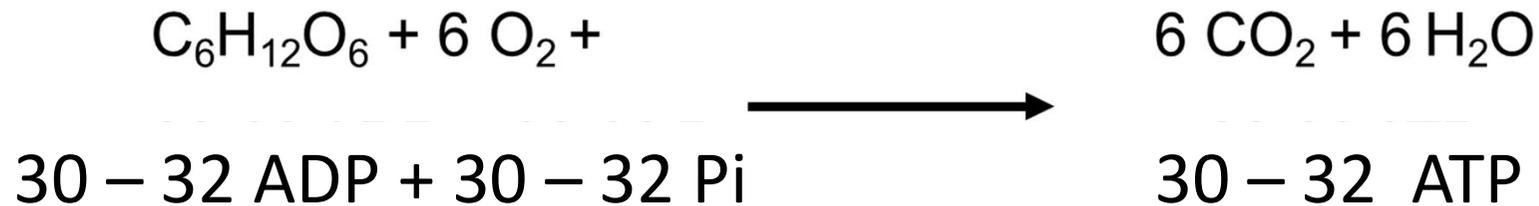


TABELA 19-5 Produção de ATP a partir da oxidação completa da glicose

Processo	Produto direto	ATP final
Glicólise	2 NADH (citosólico) 2 ATP	3 ou 5* 2
Oxidação do piruvato (dois por glicose)	2 NADH (matriz mitocondrial)	5
Oxidação da acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico (duas por glicose)	6 NADH (matriz mitocondrial) 2 FADH ₂ 2 ATP ou 2 GTP	15 3 2
Produção total por glicose		<u>30 ou 32</u>

*O número depende do sistema de lançadeira a transferir equivalentes redutores para a mitocôndria.

Oxidação Completa da Glicose



Via Glicolítica gastou: 1 glicose, 2 ADP, 2 P_i, 2 NAD⁺
gerou: 2 ATP, 2 NADH

Formação de Acetil-CoA gastou: 2 NAD⁺
gerou: 2 CO₂, 2 NADH

Ciclo Ac. Cítrico gastou: 6 NAD⁺, 2 FAD, 2 GDP, 2 P_i, 2 AcCoA
gerou: 4 CO₂, 6 NADH, 2 FADH₂, 2 GTP

Glicose

$\Delta G^{0'}$

-2.840 kJ/mol

-686 kcal/mol

ATP

$\Delta G^{0'}$

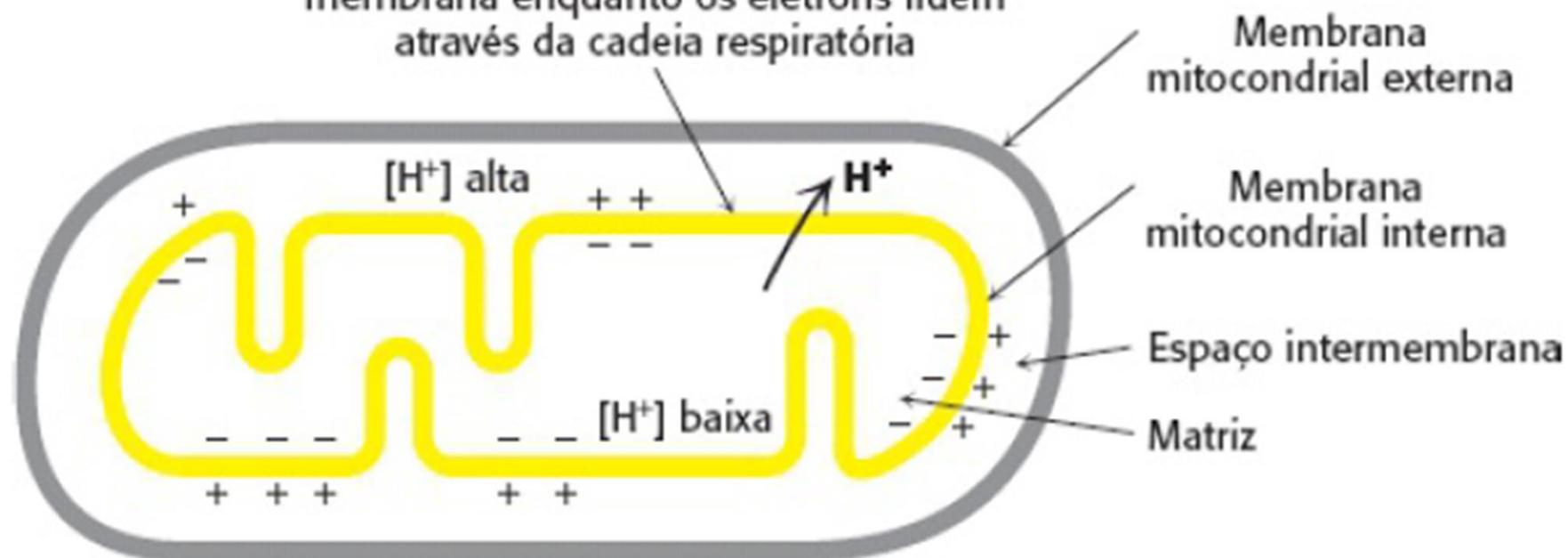
-30,5 kJ/mol

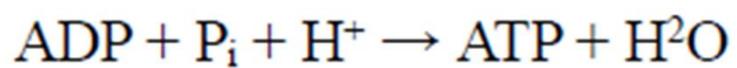
-7,3 kcal/mol



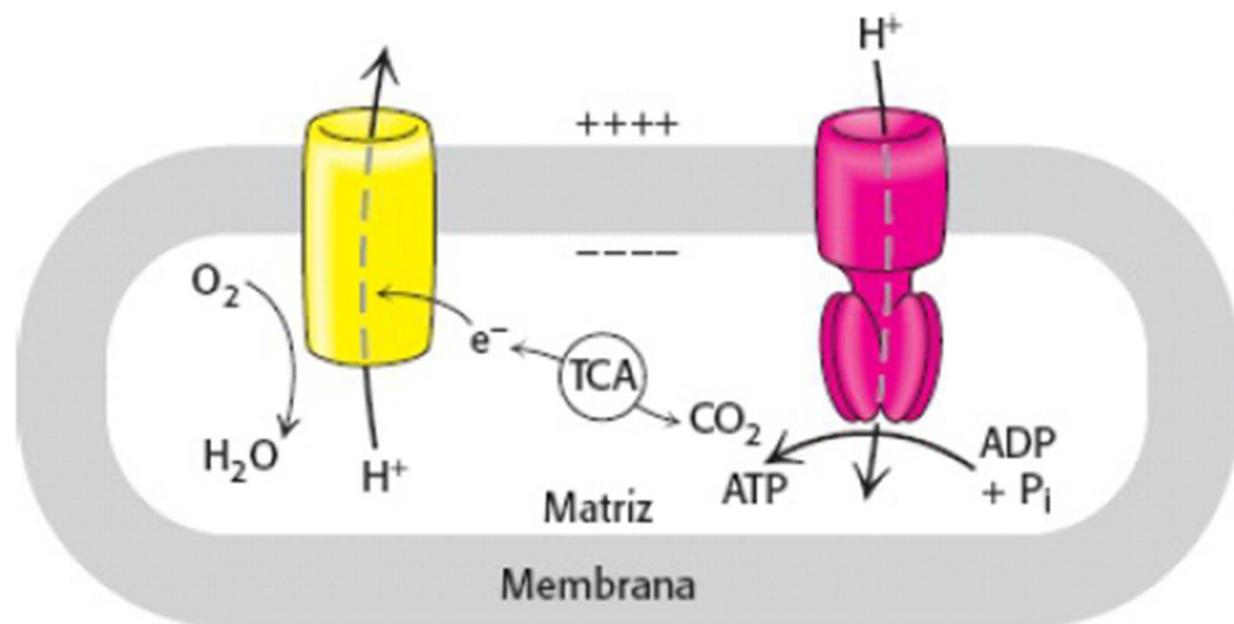
93 ATP

Os prótons são bombeados através dessa membrana enquanto os elétrons fluem através da cadeia respiratória





$$\Delta G^{\circ'} = +30,5 \text{ kJ mol}^{-1} (+7,3 \text{ kcal mol}^{-1})$$



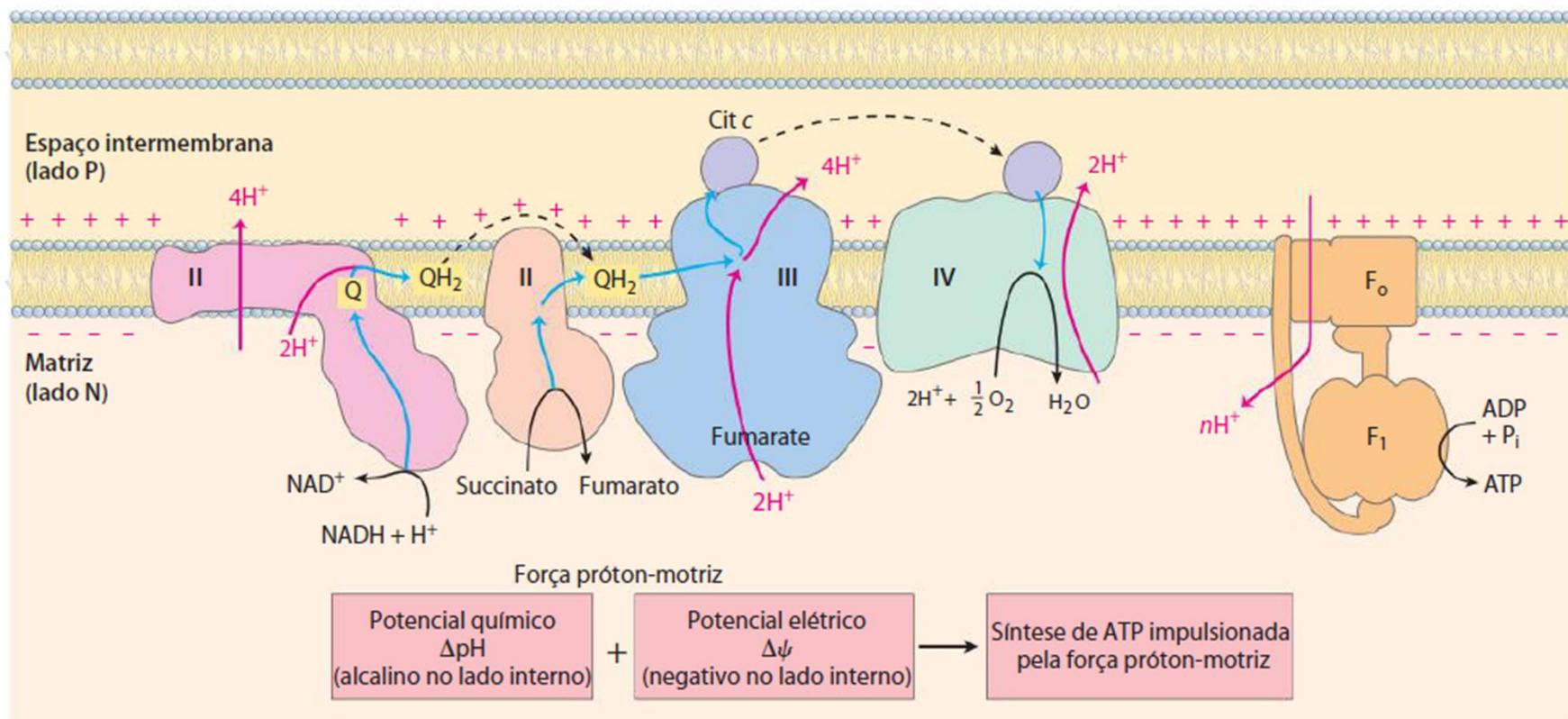
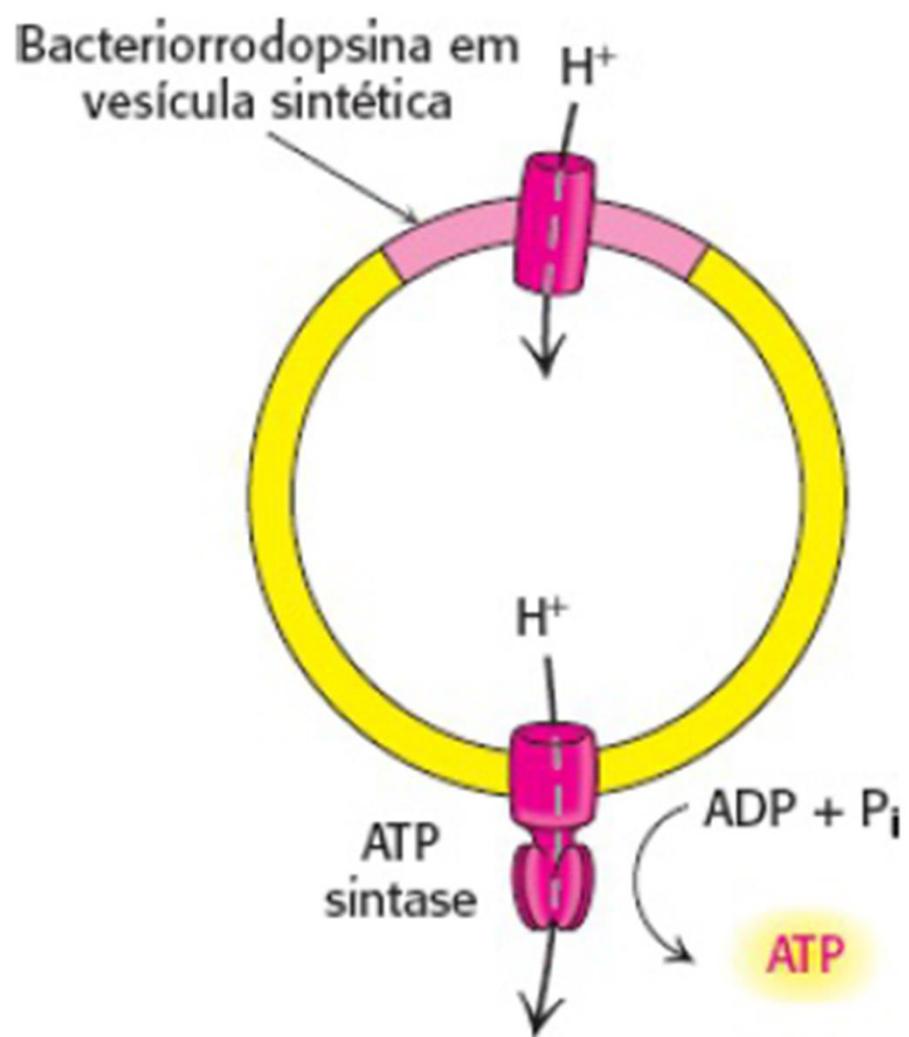


FIGURA 19-19 Modelo quimiosmótico. Nesta simples representação da teoria quimiosmótica aplicada às mitocôndrias, os elétrons do NADH e de outros substratos oxidáveis passam por meio de uma cadeia de carregadores assimetricamente arranjados na membrana interna. O fluxo de elétrons é acompanhado pela transferência de prótons através da membrana, produzindo tanto um gradiente químico (ΔpH) quanto um gradiente elétrico

($\Delta\psi$) (combinados, a força próton-motriz). A membrana mitocondrial interna é impermeável a prótons; os prótons só podem retornar à matriz através de canais específicos de prótons (F_0). A força próton-motriz que direciona os prótons de volta para a matriz proporciona a energia para a síntese de ATP, catalisada pelo complexo F_1 , associado ao F_0 .



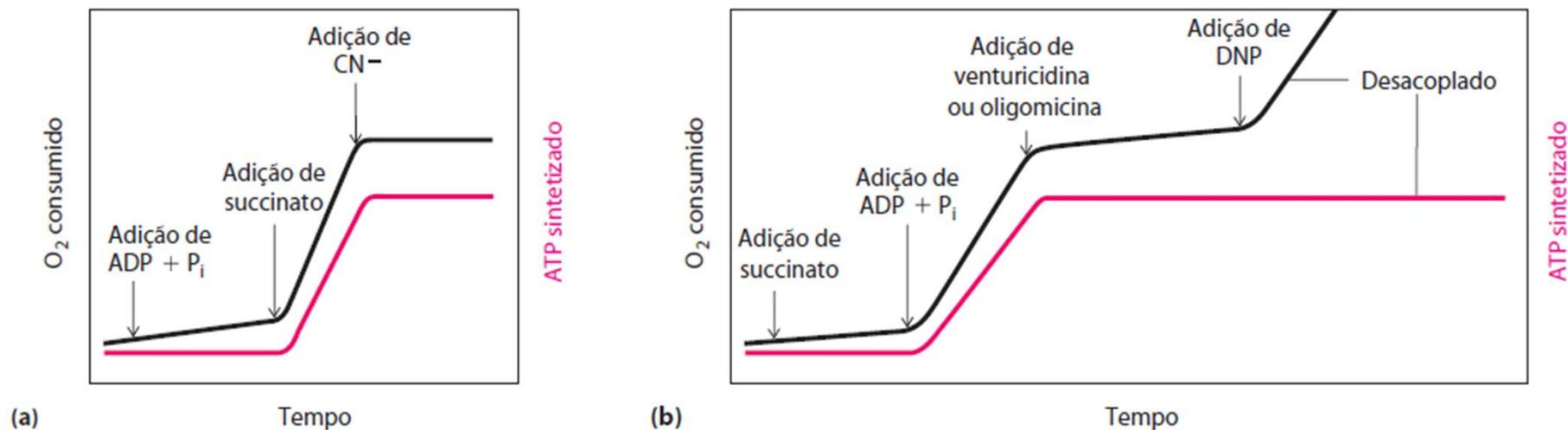


FIGURA 19-20 Acoplamento da transferência de elétrons e da síntese de ATP em mitocôndrias. Em experimentos para a demonstração do acoplamento, as mitocôndrias são suspensas em um meio tamponado, e um eletrodo de O₂ monitora o consumo de O₂. Em intervalos, amostras são removidas e analisadas para a presença de ATP. **(a)** A adição isolada de ADP e P_i resulta em pequeno ou nenhum aumento da respiração (consumo de O₂; em preto) ou da síntese de ATP (em cor-de-rosa). Quando succinato é adicionado, a respiração inicia imediatamente e ATP é sintetizado. A adição de

cianeto (CN⁻), que bloqueia a transferência de elétrons entre a citocromo-oxidase (complexo IV) e o O₂, inibe tanto a respiração quanto a síntese de ATP. **(b)** Mitocôndrias providas de succinato respiram e sintetizam ATP somente quando ADP e P_i são adicionados. A adição posterior de venturicidina ou oligomicina, inibidores da ATP-sintase, bloqueia a síntese de ATP e a respiração. Dinitrofenol (DNP) é um desacoplador, permitindo que a respiração continue sem a síntese de ATP.

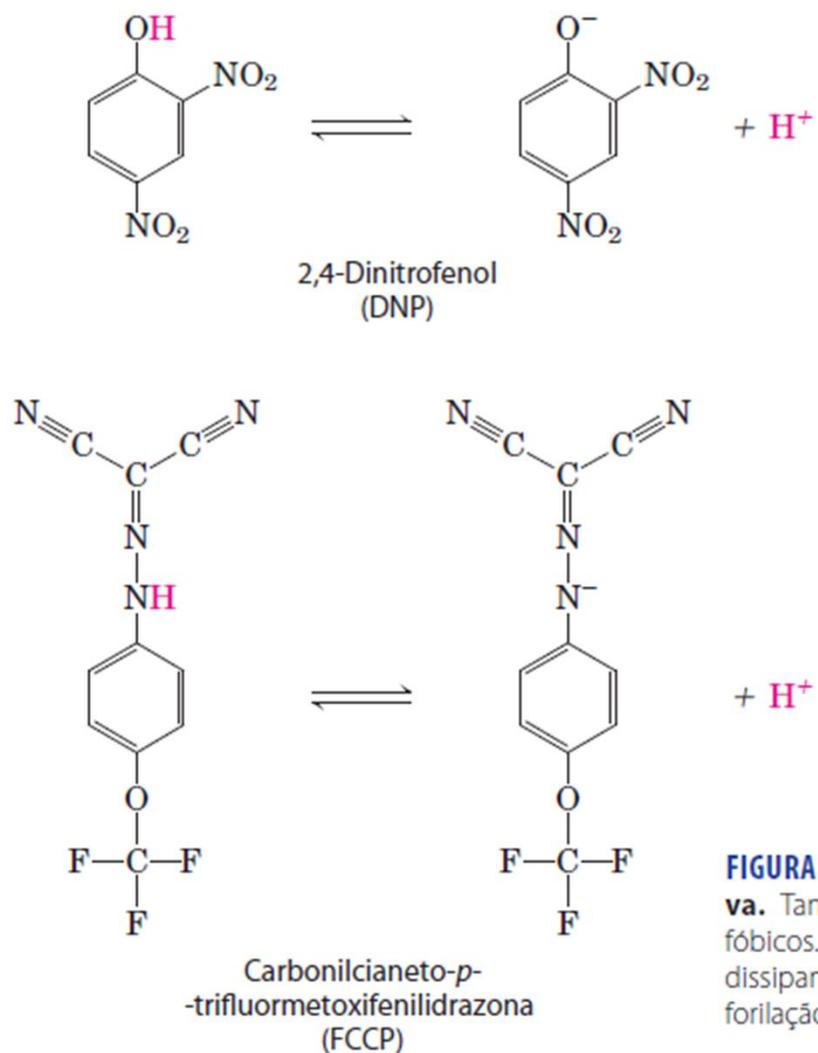


FIGURA 19-21 Dois desacopladores químicos da fosforilação oxidativa. Tanto DNP quanto FCCP têm um próton dissociável e são muito hidrofóbicos. Eles carregam prótons através da membrana mitocondrial interna, dissipando o gradiente de prótons. Os dois também desacoplam a fotofosforilação (ver Figura 19-65).

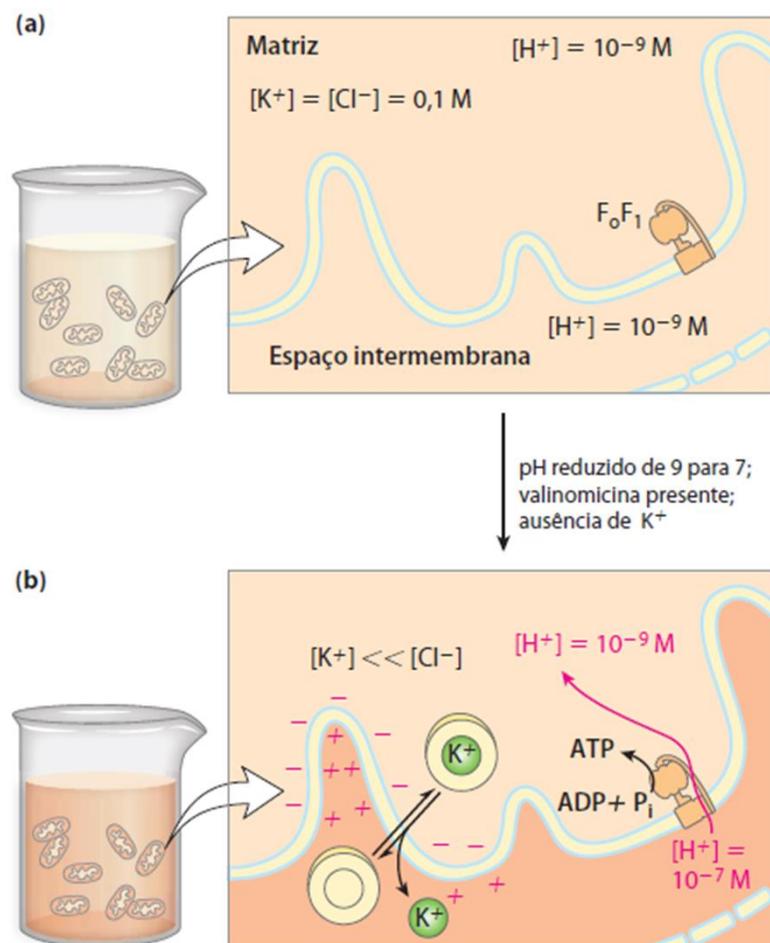
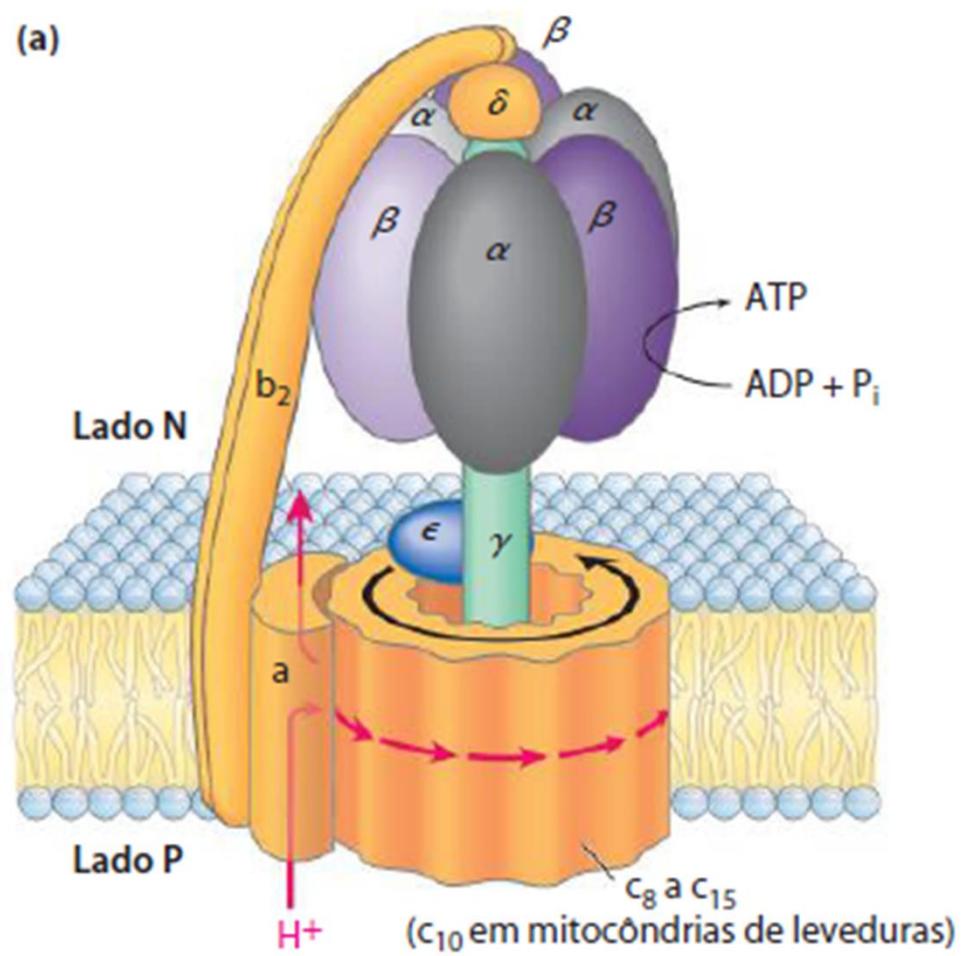
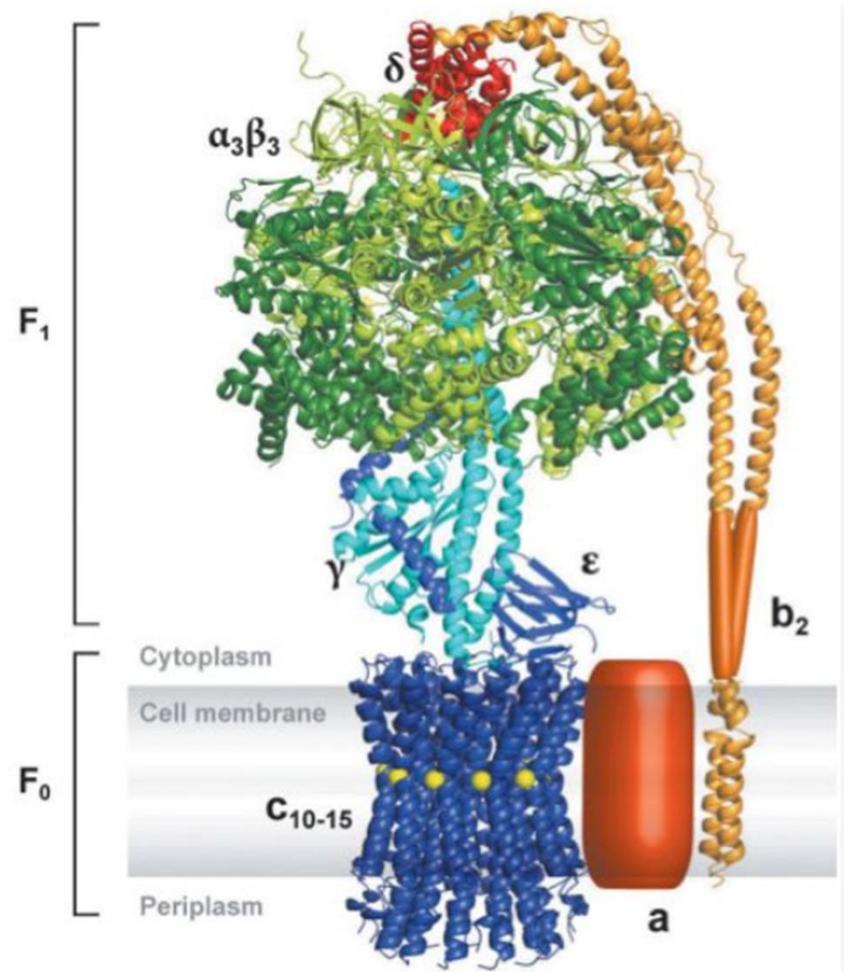
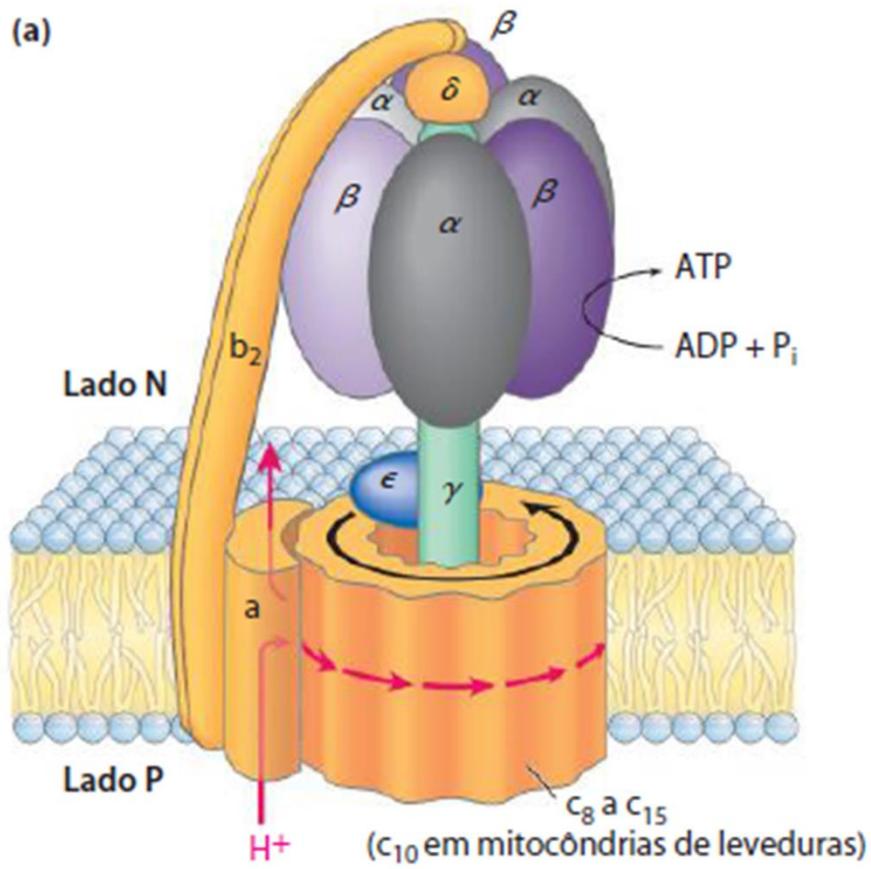
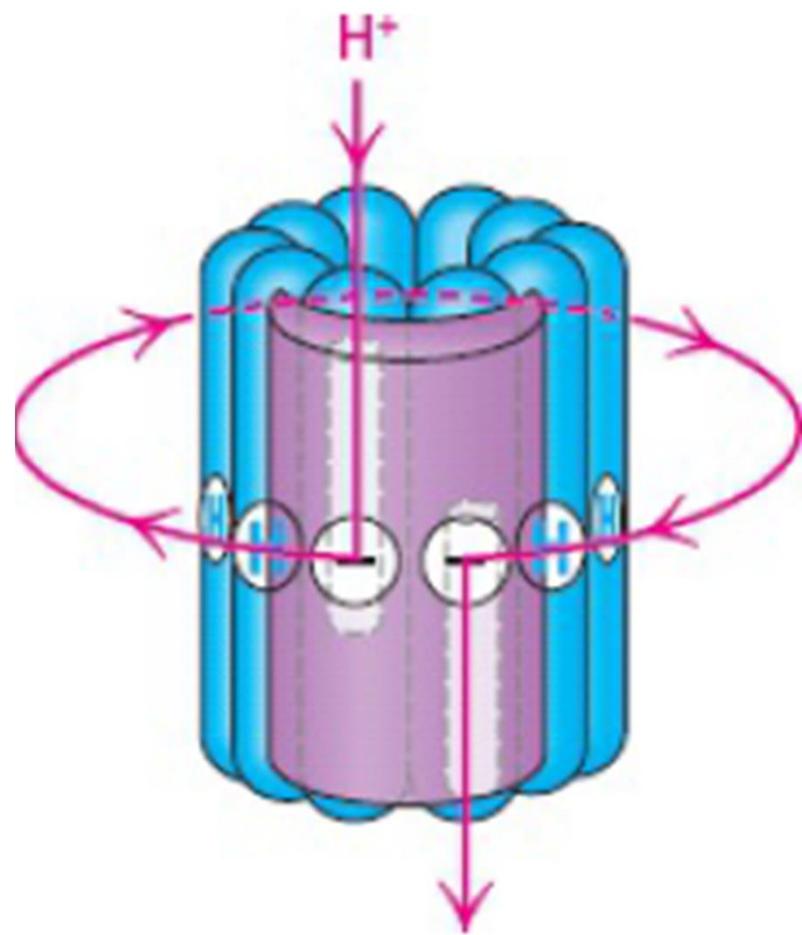


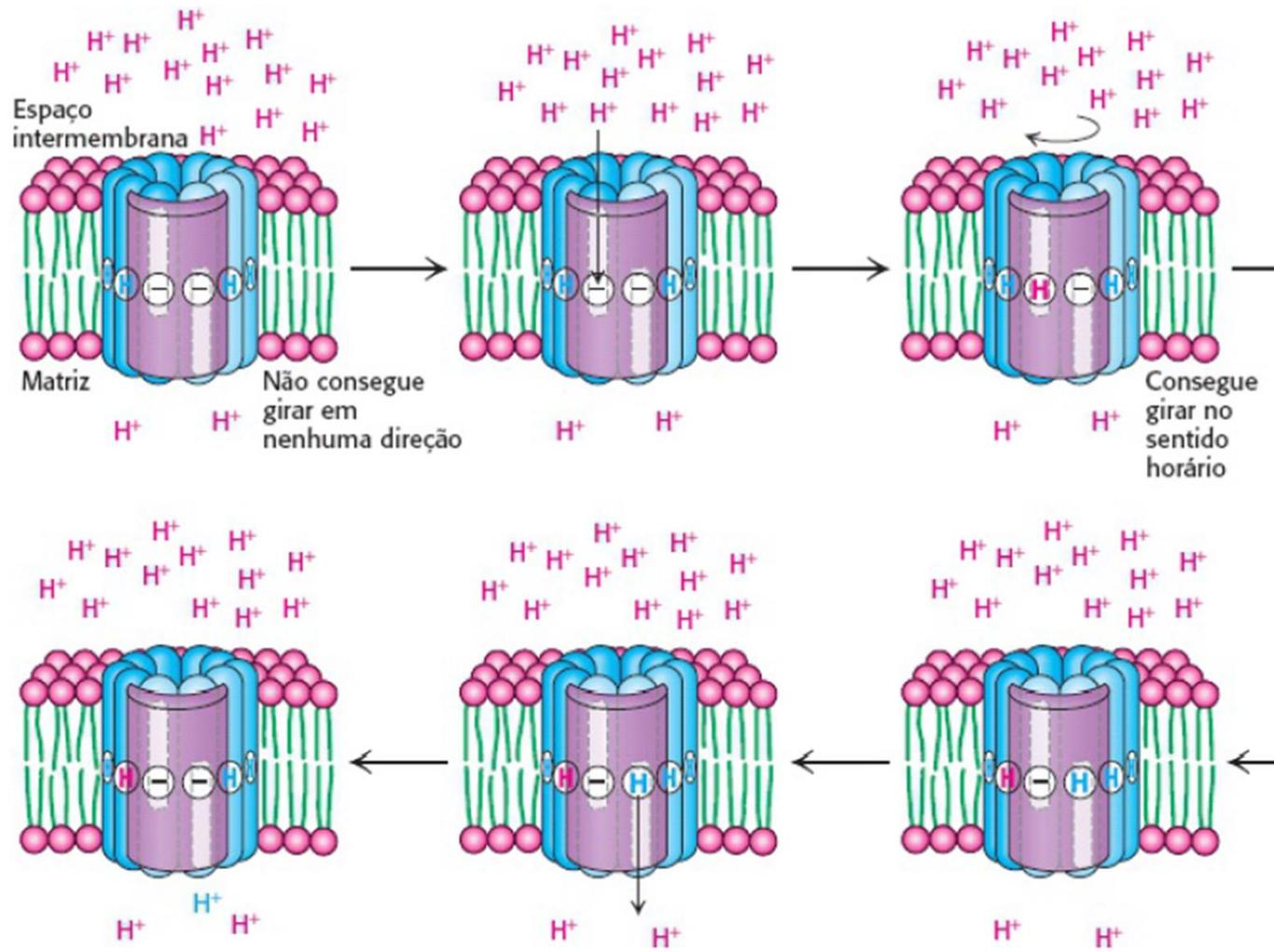
FIGURA 19-22 Evidência para o papel de um gradiente de prótons na síntese de ATP. Um gradiente eletroquímico imposto artificialmente pode gerar a síntese de ATP na ausência de um substrato oxidável como doador de elétrons. Neste experimento de duas etapas, (a) mitocôndrias isoladas são primeiramente incubadas em um tampão de pH 9 contendo KCl 0,1 m. Um lento vazamento de tampão e KCl para dentro das mitocôndrias após um certo tempo deixa a matriz em equilíbrio com o meio circundante. Nenhum substrato oxidável está presente. (b) As mitocôndrias são agora retiradas do tampão de pH 9 e ressuspensas em tampão de pH 7 contendo valinomicina, na ausência de KCl. A mudança de tampão cria uma diferença de duas unidades de pH através da membrana mitocondrial interna. O efluxo de K^+ , carregado (por valinomicina) a favor de seu gradiente de concentração sem um contra-íon, cria um equilíbrio de carga através da membrana (matriz negativa). A soma do potencial químico proporcionado pela diferença de pH e do potencial elétrico proporcionado pela separação de cargas é uma força próton-motriz grande o suficiente para sustentar a síntese de ATP na ausência de um substrato oxidável.

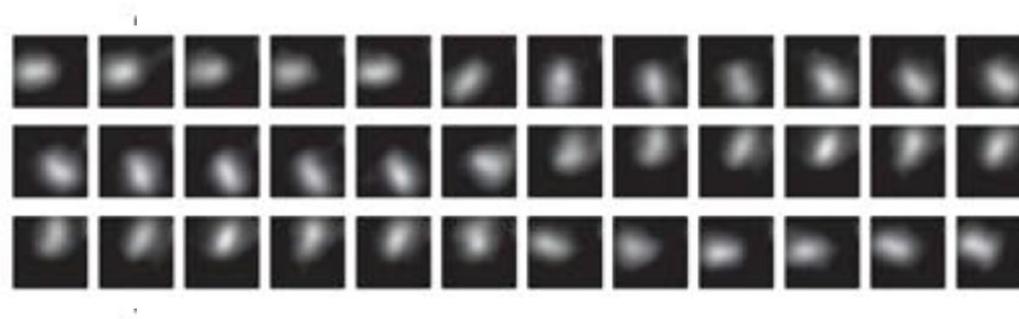
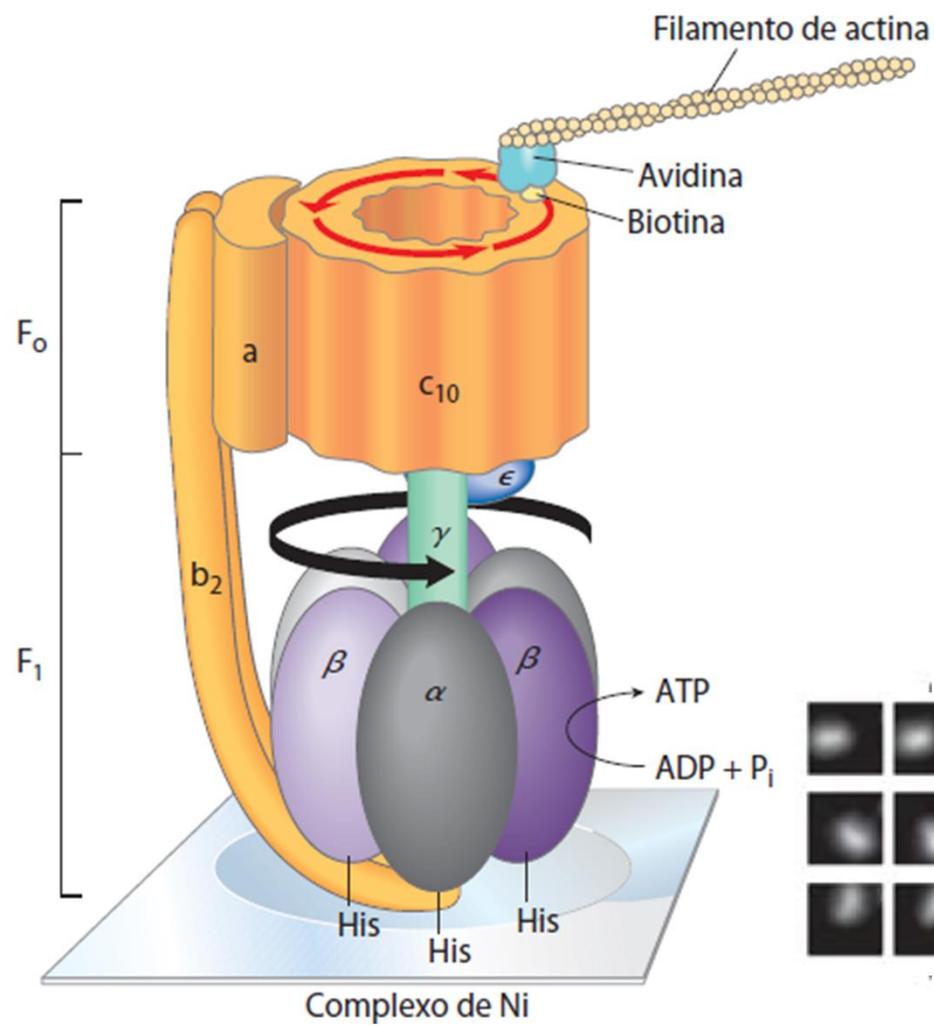


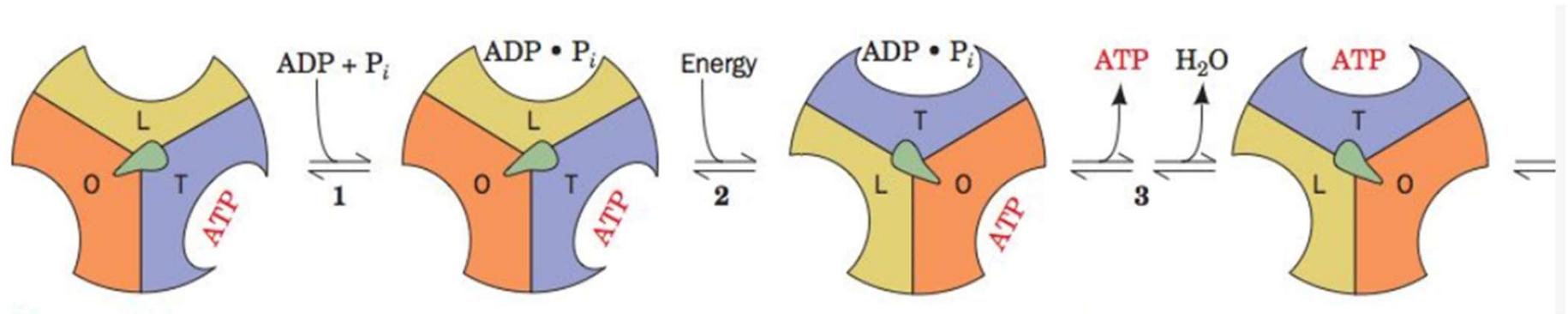
(a)











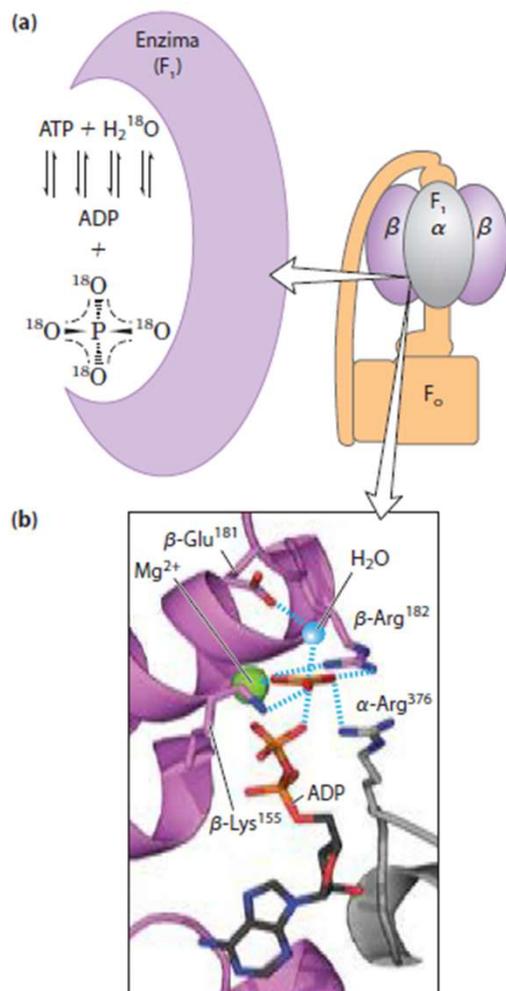


FIGURA 19-23 Mecanismo catalítico de F₁. (a) Experimento de troca de ¹⁸O. F₁ solubilizado de membranas mitocondriais é incubado com ATP na presença de água marcada com ¹⁸O. Em intervalos, uma amostra da solução é retirada e analisada para detectar a incorporação de ¹⁸O no P_i produzido a partir da hidrólise de ATP. Em minutos, o P_i contém três ou quatro átomos de ¹⁸O, indicando que tanto a hidrólise de ATP quanto a síntese de ATP ocorreram diversas vezes durante a incubação. (b) Provável complexo do estado de transição para a hidrólise e a síntese de ATP pela ATP-sintase (derivada de PDB ID 1BMF). A subunidade α é mostrada em cinza, a β em roxo. Os resíduos positivamente carregados β -Arg¹⁸² e α -Arg³⁷⁶ coordenam-se com dois oxigênios do intermediário fosfato pentavalente; β -Lys¹⁵⁵ interage com um terceiro oxigênio, e o íon Mg²⁺ estabiliza ainda mais o intermediário. A esfera azul representa o grupo que sai (H₂O). Estas interações resultam no pronto equilíbrio de ATP e ADP + P_i no sítio ativo.

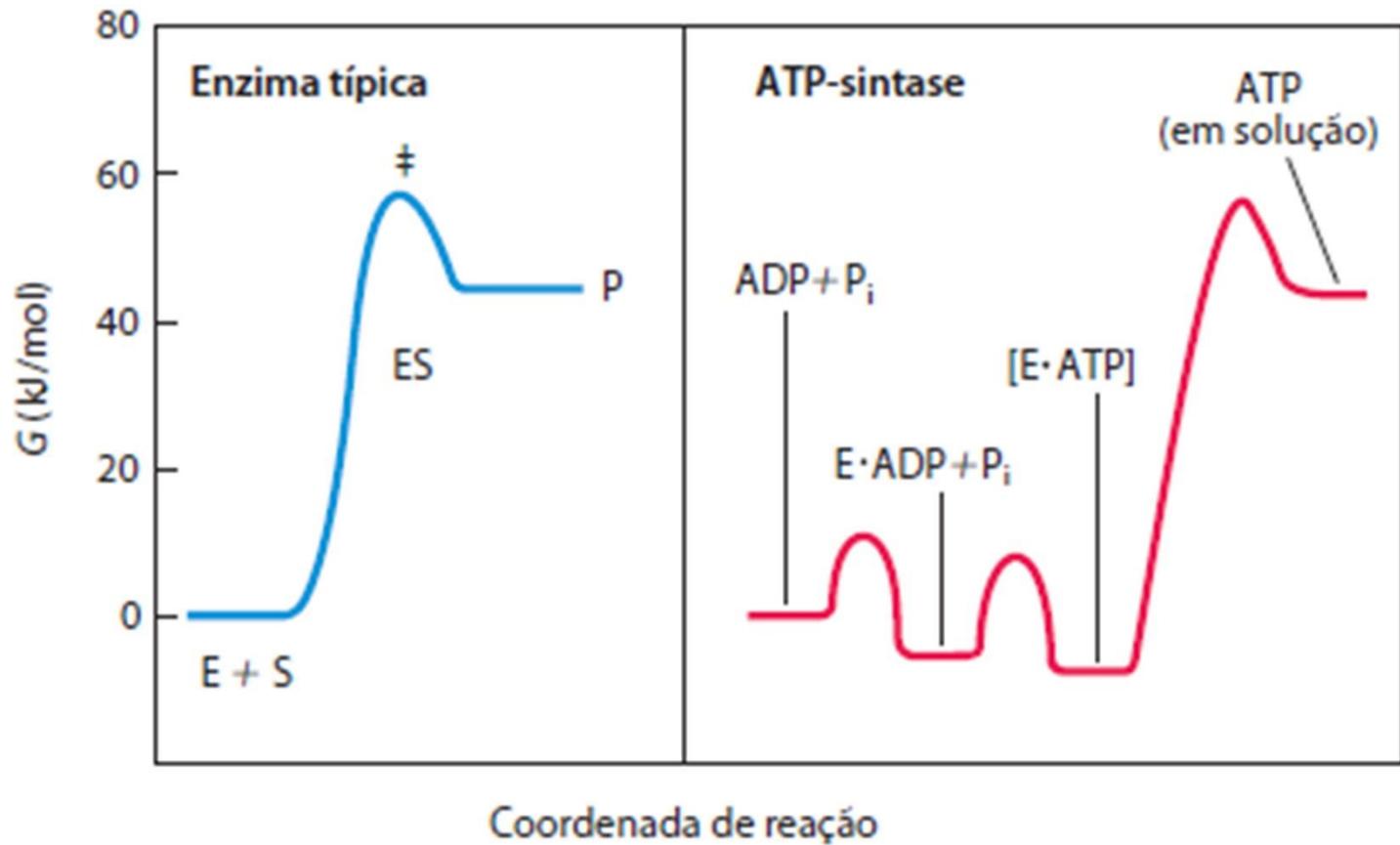


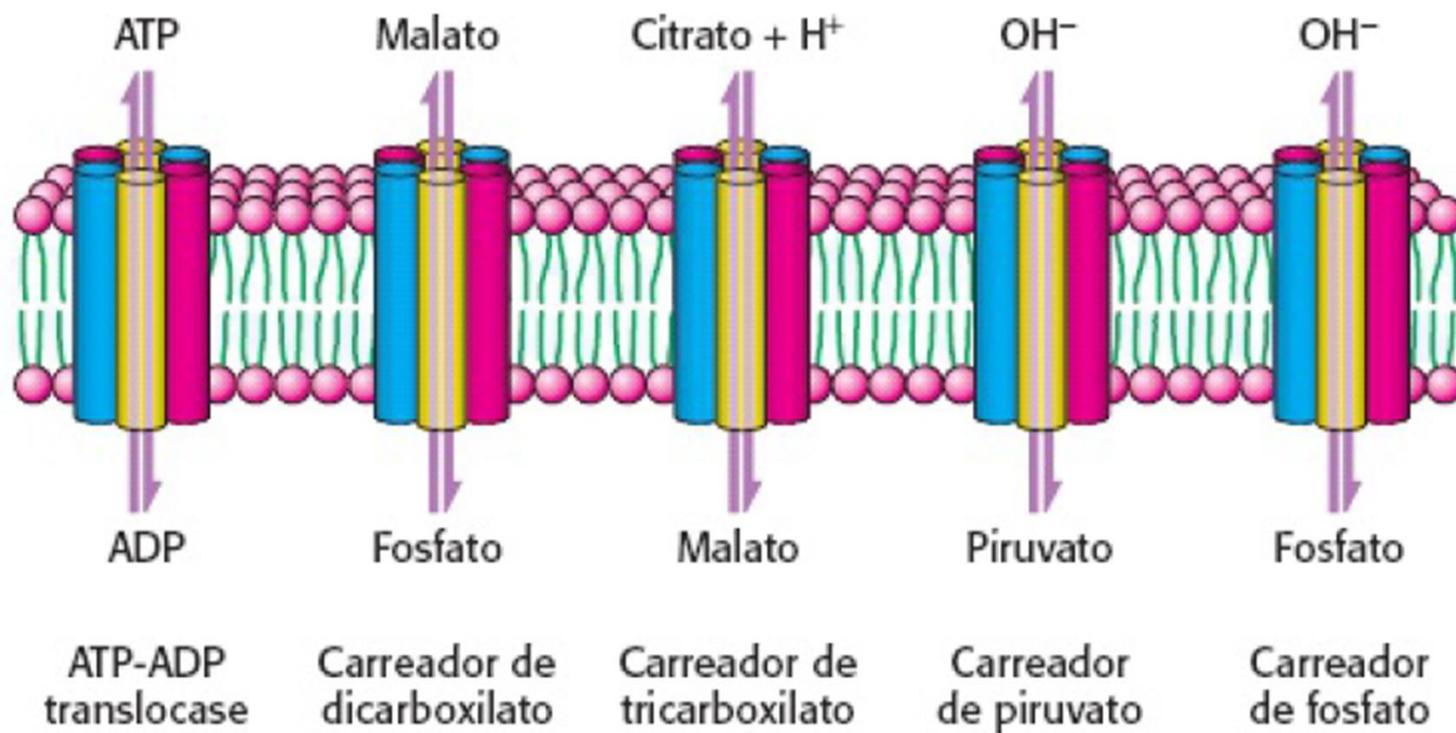
FIGURA 19-24 Diagramas de coordenadas de reação para a ATP-sintase e para uma enzima mais típica. Em uma reação típica catalisada por enzima (à esquerda), alcançar o estado de transição (‡) entre substrato e produtos é a principal barreira energética a ser superada. Na reação catalisada pela ATP-sintase (à direita), a liberação de ATP a partir da enzima, e não a formação de ATP, é a principal barreira energética. A variação de ener-

gia livre para a formação de ATP a partir de ADP e P_i em solução aquosa é grande e positiva, mas na superfície da enzima a ligação muito firme do ATP proporciona energia de ligação suficiente para trazer a energia livre do ATP ligado à enzima para perto daquela de $ADP + P_i$, de forma que a reação é prontamente reversível. A constante de equilíbrio é próxima de 1. A energia livre necessária para a liberação do ATP é fornecida pela força próton-motriz.

Citoplasma

Membrana
mitocondrial
interna

Matriz



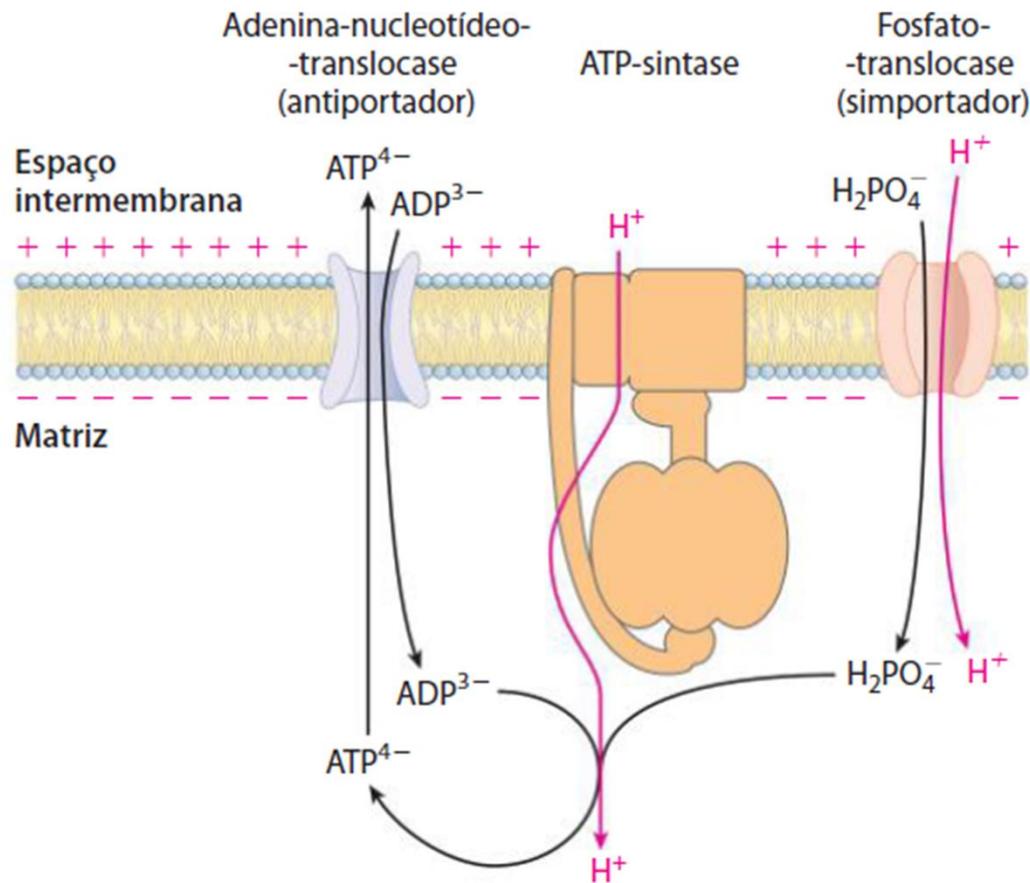
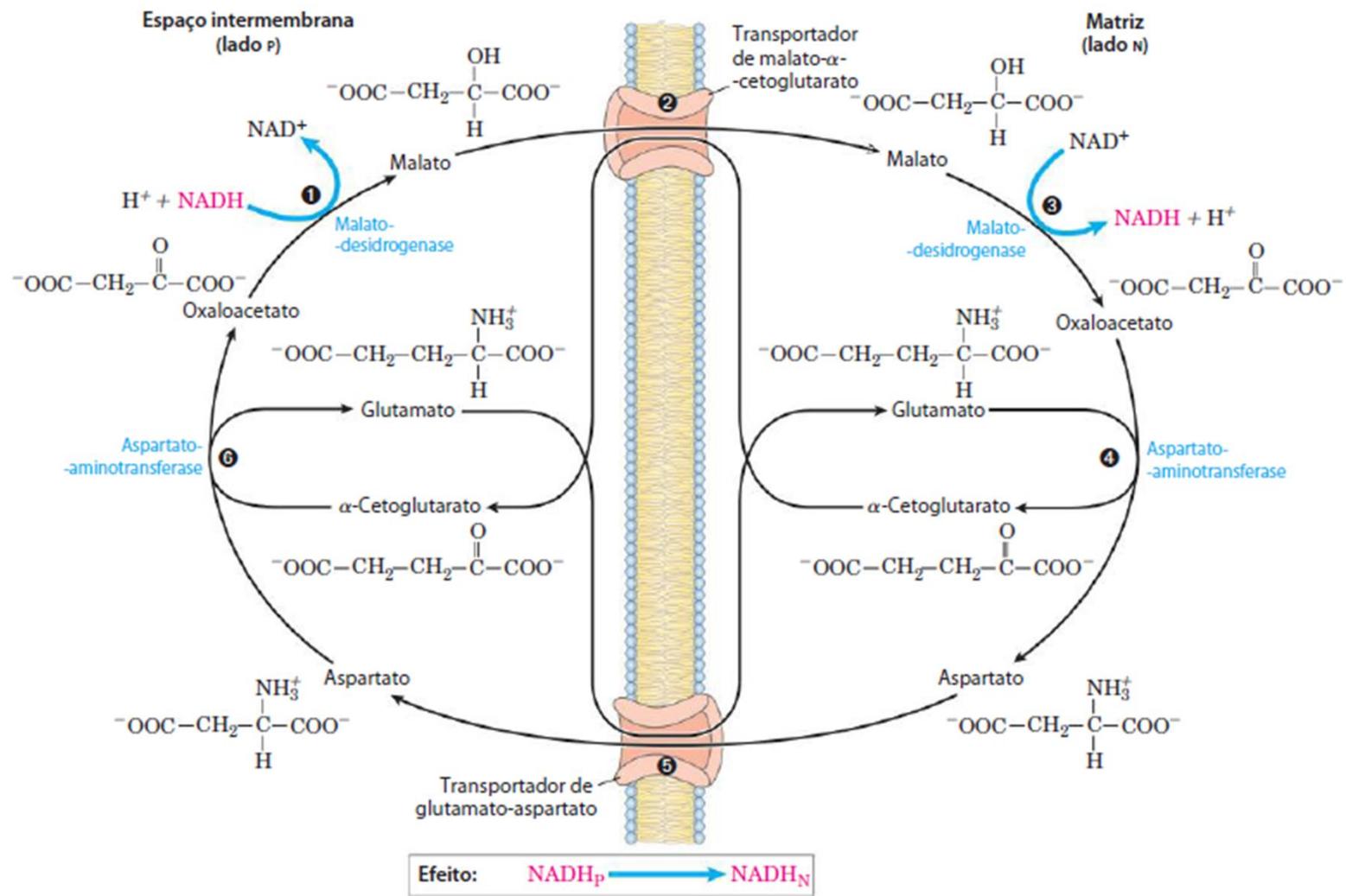


FIGURA 19-30 Adenina-nucleotídeo e fosfato-translocases. Sistemas de transporte da membrana mitocondrial interna carregam ADP e P_i para a matriz e ATP recentemente sintetizado para o citosol. A adenina-nucleotídeo-translocase é um antiportador; a mesma proteína move ADP para a matriz e ATP para fora. O efeito de substituir ATP^{4-} por ADP^{3-} na matriz é o efluxo líquido de uma carga negativa, favorecido pela diferença de cargas através da membrana interna (positiva fora). Em pH 7, o P_i está presente tanto como HPO_4^{2-} quanto como H_2PO_4^- . A fosfato-translocase é específica para H_2PO_4^- . Não existe nenhum fluxo líquido de carga durante o simporte de H_2PO_4^- e H^+ , mas a concentração relativamente baixa de prótons na matriz favorece o movimento de H^+ para dentro. Assim, a força próton-matriz é responsável por proporcionar energia para a síntese de ATP e por transportar substratos (ADP e P_i) para dentro e produto (ATP) para fora da matriz mitocondrial. Todos esses três sistemas de transporte podem ser isolados como um único complexo ligado à membrana (ATP sintassomo).



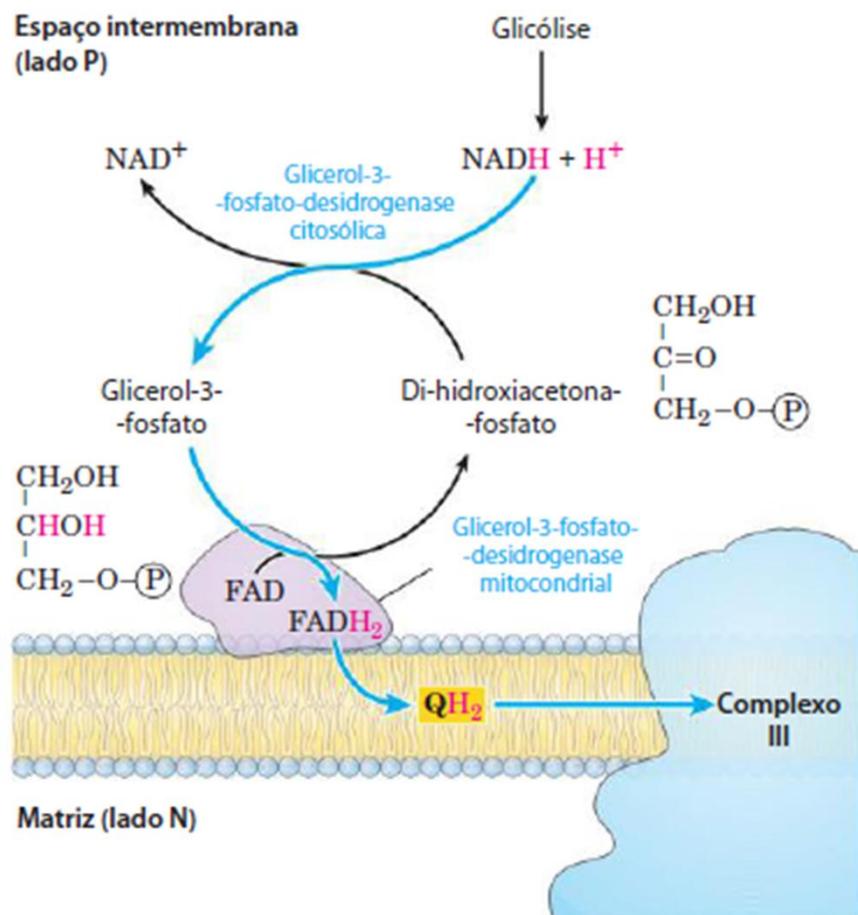
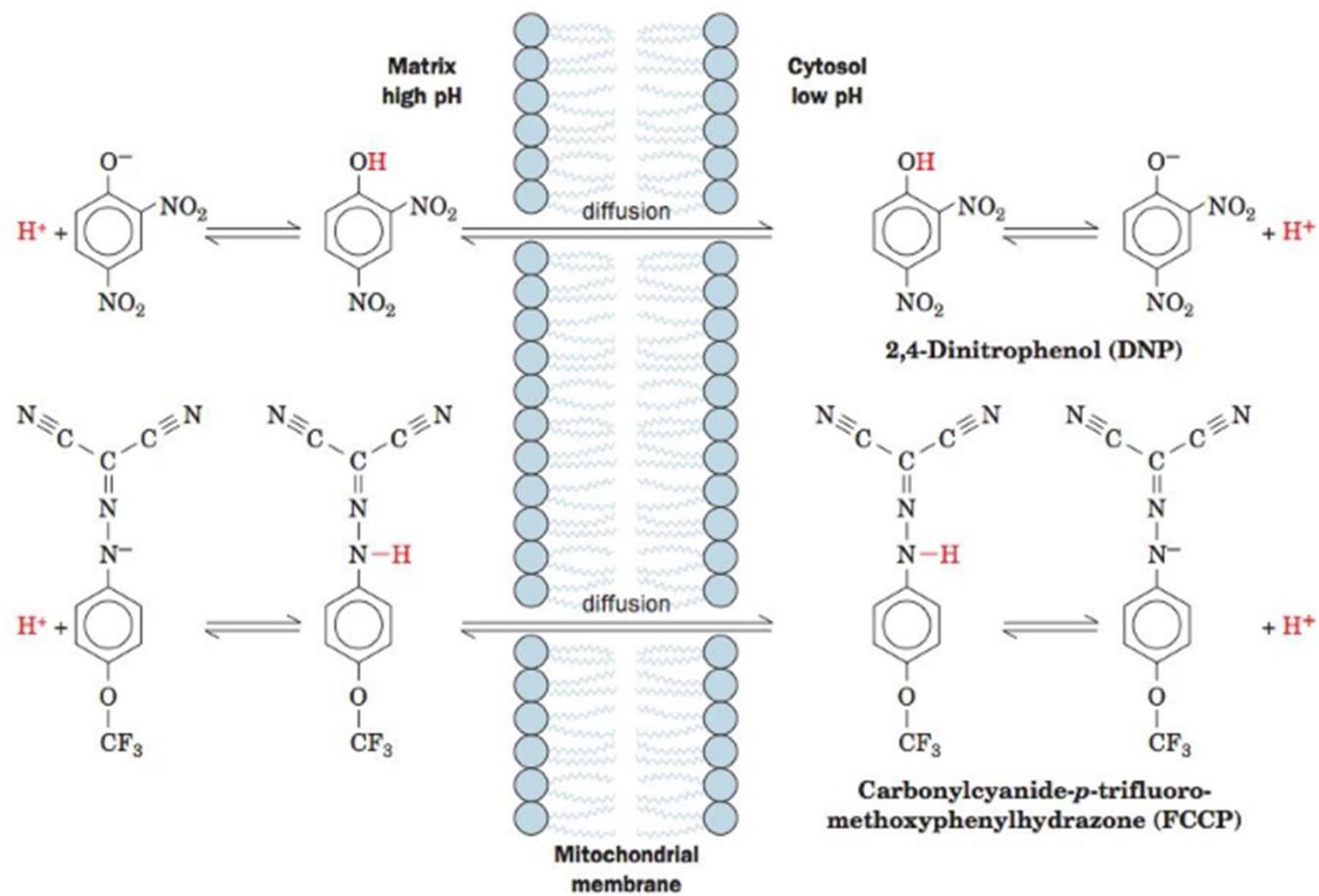


FIGURA 19-32 Lançadeira do glicerol-3-fosfato. Esta forma alternativa de mover equivalentes redutores do citosol para a matriz mitocondrial opera no músculo esquelético e no encéfalo. No citosol, di-hidroxiacetona-fosfato aceita dois equivalentes redutores do NADH em uma reação catalisada pela glicerol-3-fosfato-desidrogenase citosólica. Uma isoenzima da glicerol-3-fosfato-desidrogenase ligada à face externa da membrana interna transfere então dois equivalentes redutores do glicerol-3-fosfato no espaço intermembrana para a ubiquinona. Observe que esta transferência não envolve sistemas de transporte de membrana.



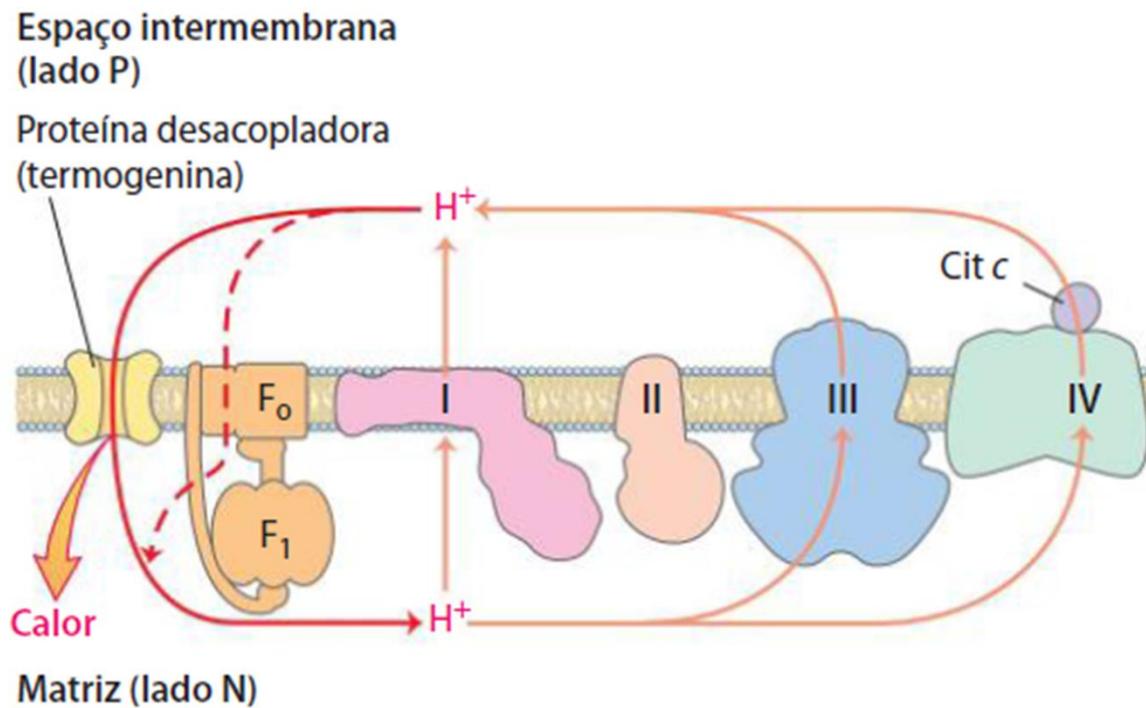


FIGURA 19-36 Geração de calor por mitocôndrias desacopladas. A proteína desacopladora (termogenina) nas mitocôndrias do tecido adiposo marrom, ao fornecer uma via alternativa para os prótons reentrarem na matriz mitocondrial, faz a energia conservada pelo bombeamento de prótons ser dissipada como calor.

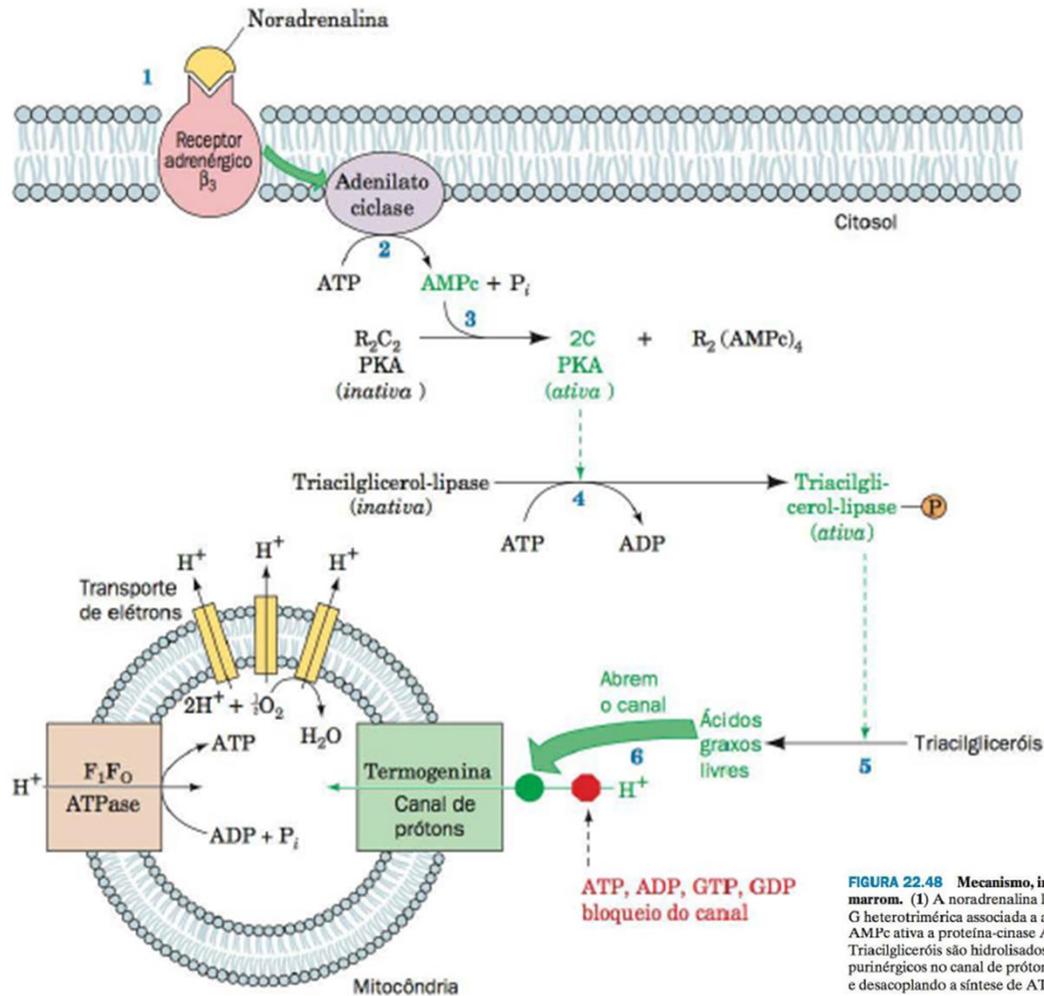


FIGURA 22.48 Mecanismo, induzido por hormônio, do desacoplamento da fosforilação oxidativa em mitocôndria de gordura marrom. (1) A noradrenalina liga-se a um receptor adrenérgico β_3 . (2) O complexo noradrenalina-receptor estimula a proteína G heterotrímica associada a ativar a adenilato-ciclase (*seta verde na parte superior*), a qual sintetiza AMPc. (3) A ligação do AMPc ativa a proteína-cinase A (PKA). (4) A PKA fosforila a triacilglicerol-lipase sensível a hormônio, que assim é ativada. (5) Triacilgliceróis são hidrolisados, produzindo ácidos graxos livres. (6) Ácidos graxos livres sobrepõem o bloqueio de nucleotídeos purinérgicos no canal de prótons formado pela termogenina (*seta verde na parte inferior*), permitindo ao H^+ entrar na mitocôndria e desacoplando a síntese de ATP.



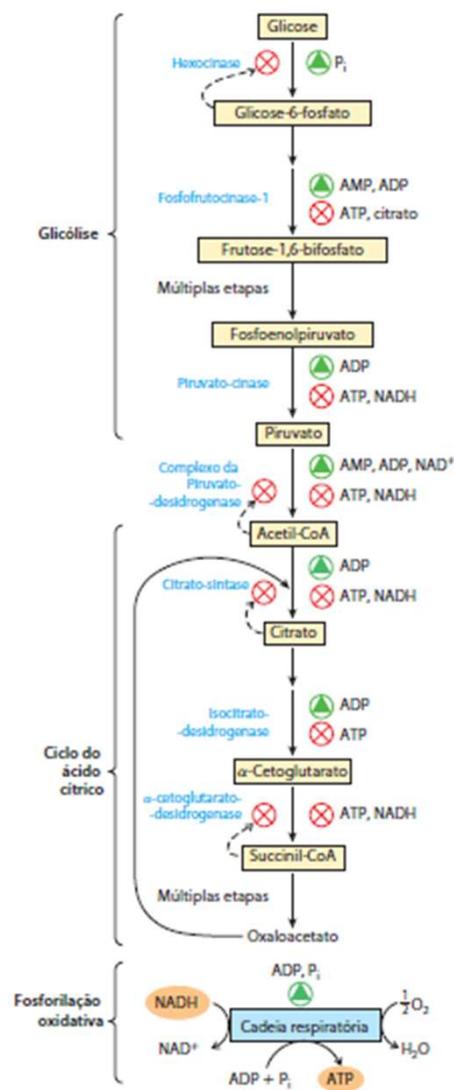


FIGURA 19-35 Regulação das vias que produzem ATP. Este diagrama mostra a regulação interconectada da glicólise, da oxidação do piruvato, do ciclo do ácido cítrico e da fosforilação oxidativa pelas concentrações relativas de ATP, ADP, AMP e por NADH. Alta [ATP] (ou baixa [ADP] e [AMP]) produz baixas velocidades de glicólise, oxidação do piruvato, oxidação do acetato via ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa. Todas as quatro vias são aceleradas quando o uso de ATP e a formação de ADP, AMP e P_i aumentam. A interligação da glicólise e do ciclo do ácido cítrico pelo citrato, o qual inibe a glicólise, suplementa a ação do sistema de nucleotídeos da adenina. Além disso, níveis aumentados de NADH e de acetil-CoA também inibem a oxidação de piruvato a acetil-CoA, e uma alta razão $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$ inibe as reações das desidrogenases do ciclo do ácido cítrico (ver Figura 16-19).