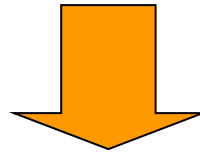


Fosforilação Oxidativa

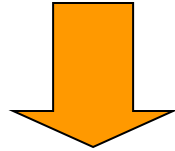
ou

**“Como conseguimos acoplar a oxidação de
NADH e FADH₂ à produção de ATP”**

A célula precisa trabalhar



Portanto, precisa de energia



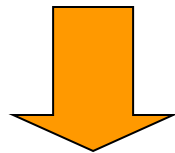
Catabolismo

Respiração celular

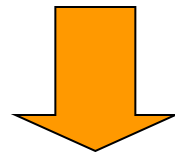
Uso de oxigênio

Sem oxigênio

Fermentação



Ganha energia com ATP



Repete

A Base do Catabolismo

Reagentes \longrightarrow **Produtos**

Transferência de elétrons

relembrando...

Reações redox

Transferência de elétrons

- Oxidação: perda de elétrons
- Redução: ganho de elétrons

Agente redutor



Agente oxidante

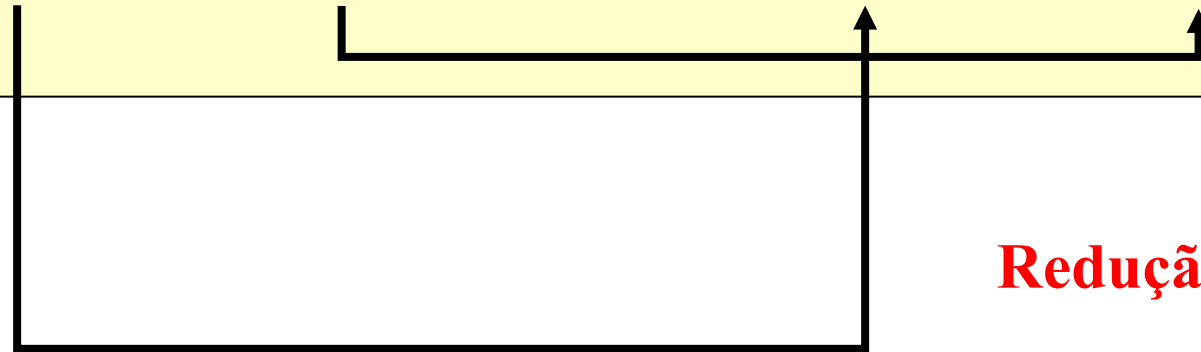
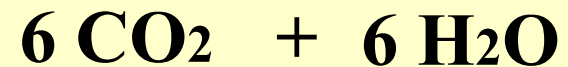
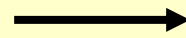
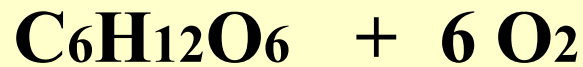
Respiração celular

REAGENTES

PRODUTOS

Glicose + oxigênio

Dióxido + água
de carbono



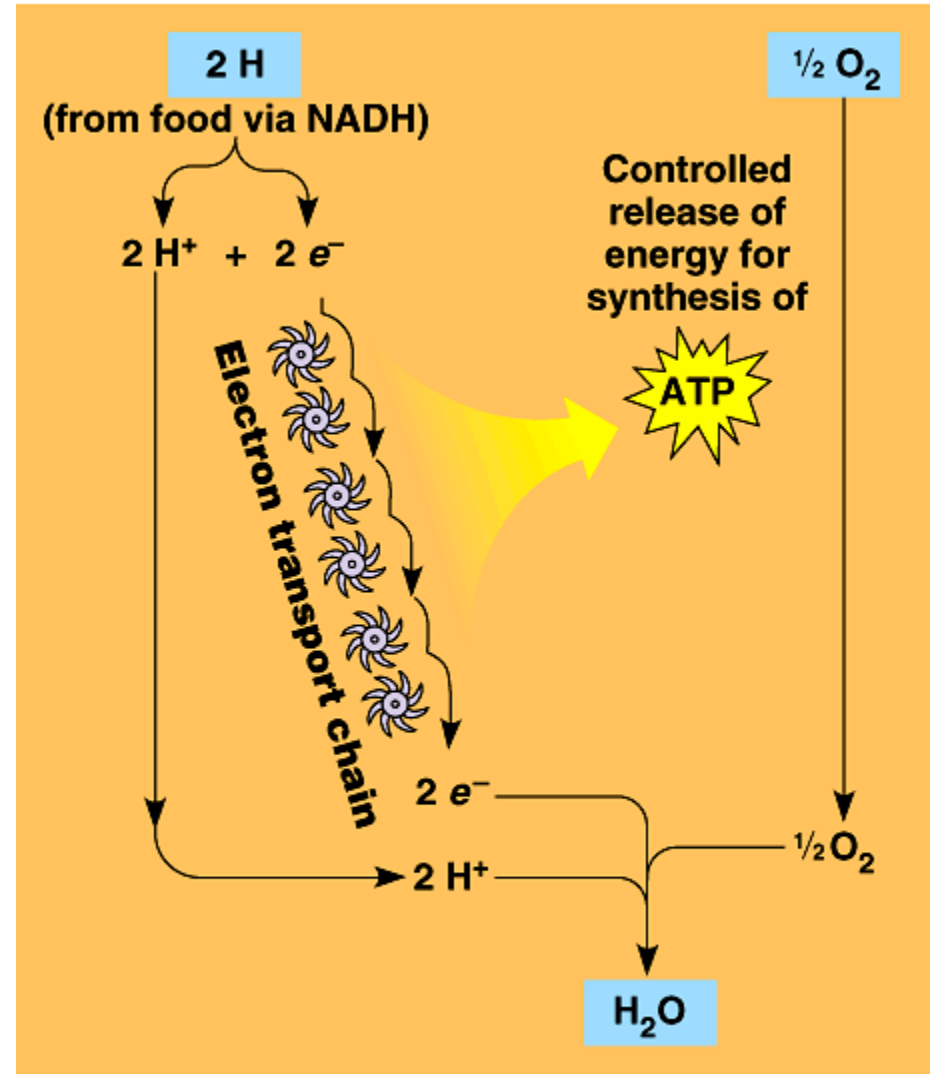
Redução

Oxidação

Ganho de energia



(a) Uncontrolled reaction



(b) Cellular respiration



Antoine Lavoisier, 1743-1794

O químico francês Antoine Lavoisier reconheceu que de alguma forma os animais transformam os combustíveis químicos (alimentos) em calor e que esse processo de respiração é essencial para a vida. Ele observou que

...em geral, a respiração é nada mais que a combustão lenta de carbono e hidrogênio, semelhante à que ocorre em uma lâmpada ou vela acesa e, desse

ponto de vista, animais que respiram são corpos combustíveis que queimam e consomem a si próprios... Alguém poderia dizer que essa analogia entre combustão e respiração não passou despercebida pelos poetas, ou ainda pelos filósofos da antiguidade, já tendo sido relatada e interpretada por eles. Esse fogo roubado dos céus, essa tocha de Prometeu, não representa apenas uma ideia engenhosa e poética, ela é um retrato fiel das operações da natureza, pelo menos para os animais que respiram; portanto, alguns podem dizer, com os antigos, que a tocha da vida ilumina a si mesma no momento em que a criança respira pela primeira vez, e ela só se extingue na morte.¹

**Eletronegatividade
baixa**



Eletronegatividade alta

Glicose



NADH



Cadeia de transporte de elétrons



Oxigênio

Energy



Fosforilação do ADP

Onde ocorre?...



Albert L. Lehninger,
1917–1986

Eugene Kennedy e Albert Lehninger,
1948. Descoberta de que as
mitocôndrias são os locais da
fosforilação oxidativa nos eucariotos.

(a)

ATP-sintase
(F_0F_1)

Cristas

Membrana externa

Livremente permeável a pequenas moléculas e íons

Membrana interna

Impermeável à maioria das pequenas moléculas e íons, incluindo H^+

Contém:

- Transportadores de elétrons da cadeia respiratória (complexos I-IV)
- ADP-ATP-translocase
- ATP-sintase (F_0F_1)
- Outros transportadores de membrana

Matriz

Contém:

- Complexo da piruvato-desidrogenase
- Enzimas do ciclo do ácido cítrico
- Enzimas da β -oxidação de ácidos graxos
- Enzimas de oxidação de aminoácidos

- DNA, ribossomos

- Muitas outras enzimas

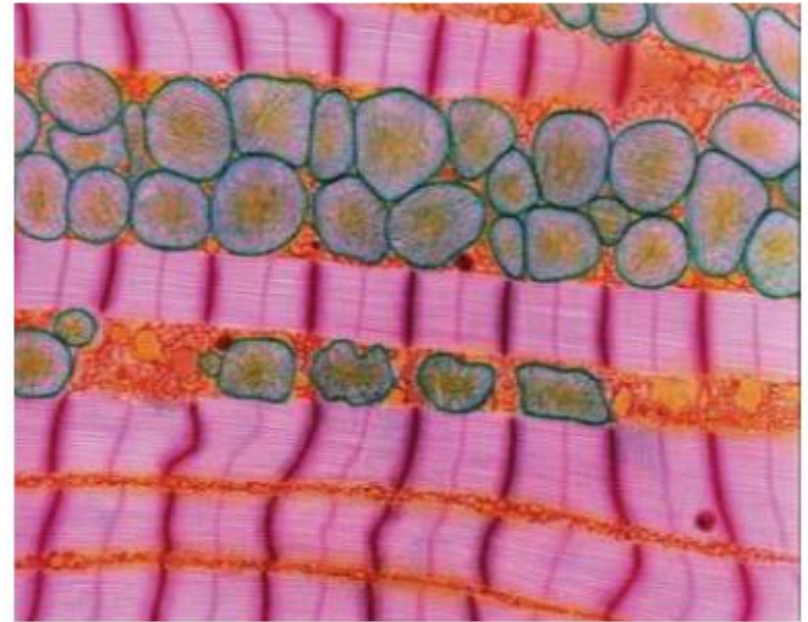
- ATP, ADP, P_i , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+

- Muitos intermediários metabólicos solúveis

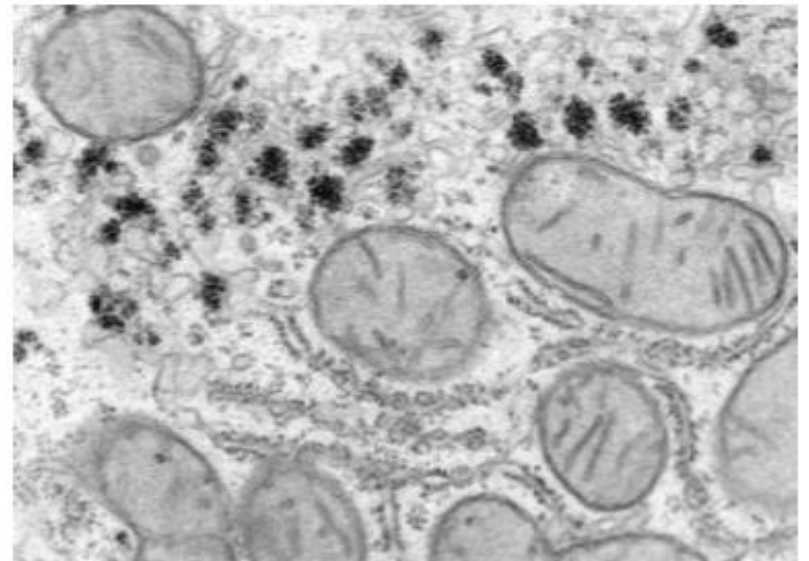
Ribossomos

Canais de porinas

(b)



(c)



Como?...

Por meio de carreadores de
elétrons

NAD

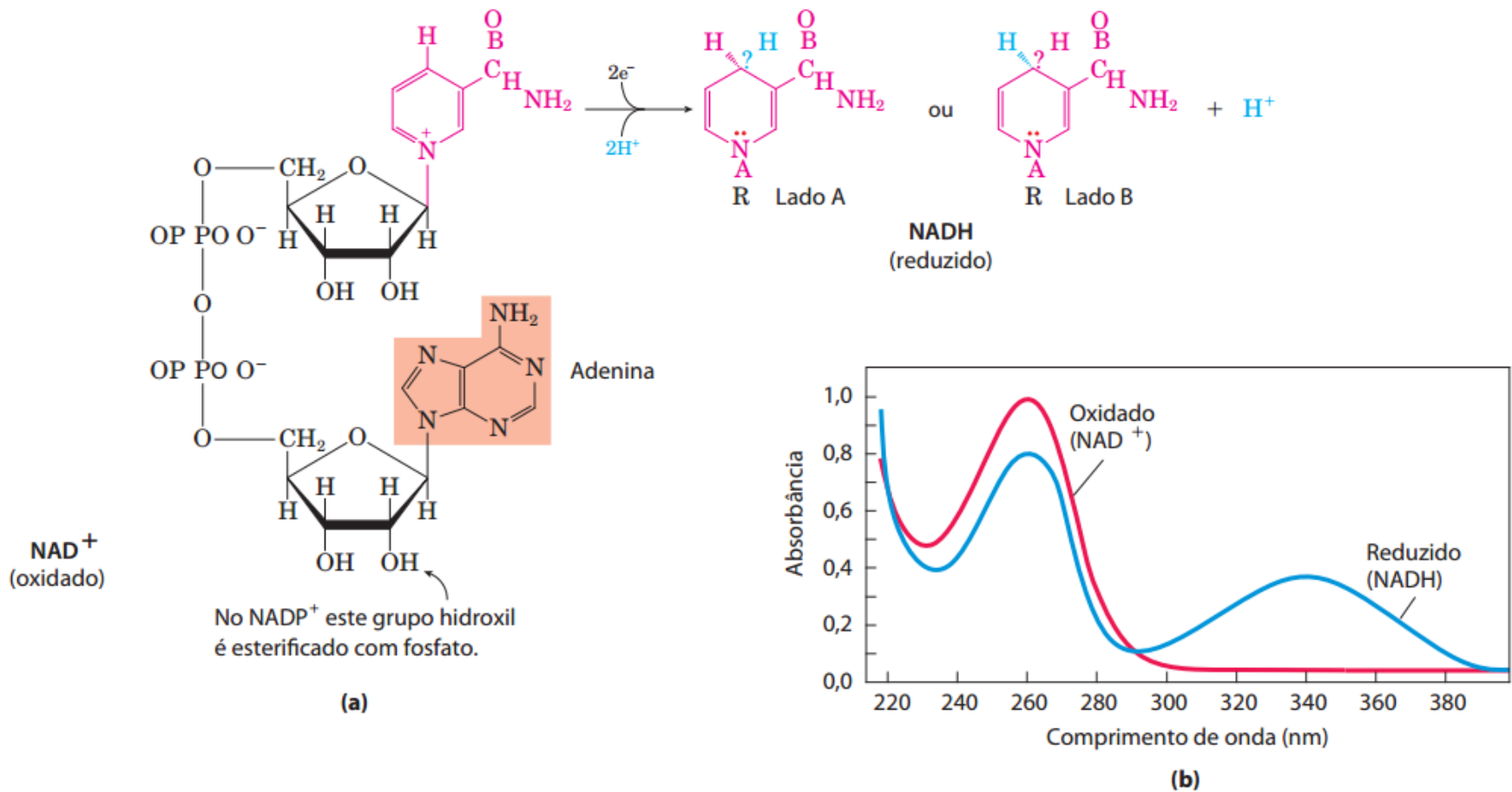
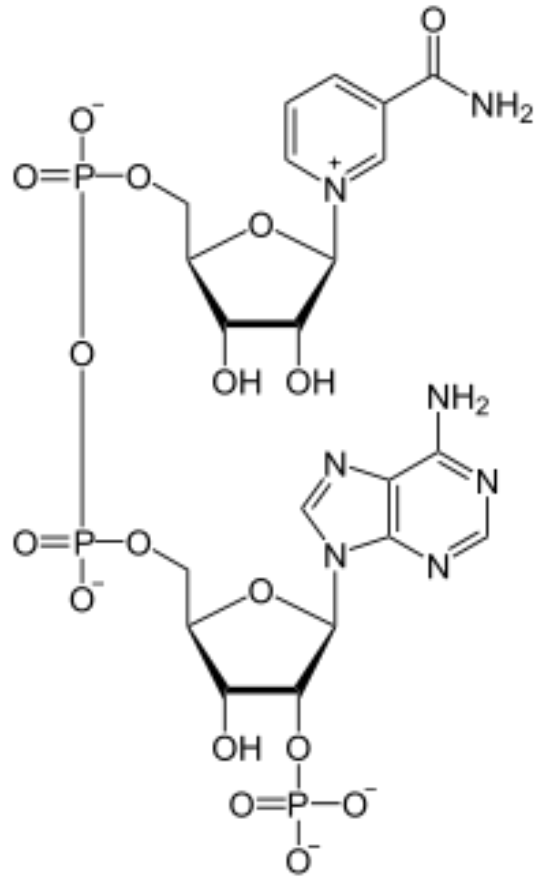


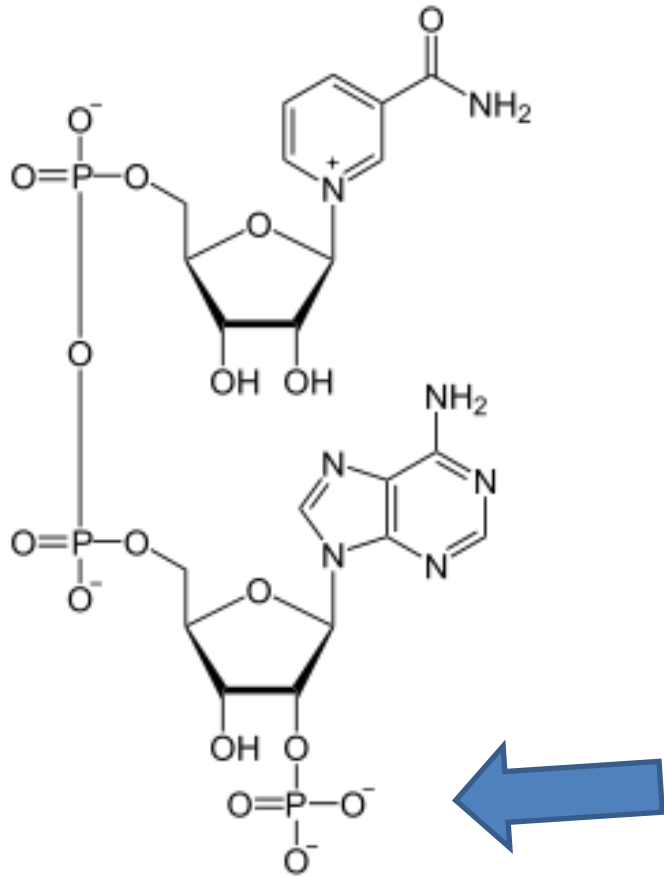
FIGURA 13-24 NAD e NADP. (a) O dinucleotídeo de nicotinamida-adenina, NAD⁺, e seu análogo fosforilado NADP⁺ sofrem redução a NADH e NADPH, recebendo um íon hidreto (dois elétrons e um próton) de um

Tabela 13-8). (b) Espectro de absorção no UV de NAD⁺ e NADH. A redução do anel de nicotinamida gera uma banda de absorção ampla, com máximo em 340 nm. A produção de NADH durante uma reação enzimática pode ser

NADP



NADP



FAD

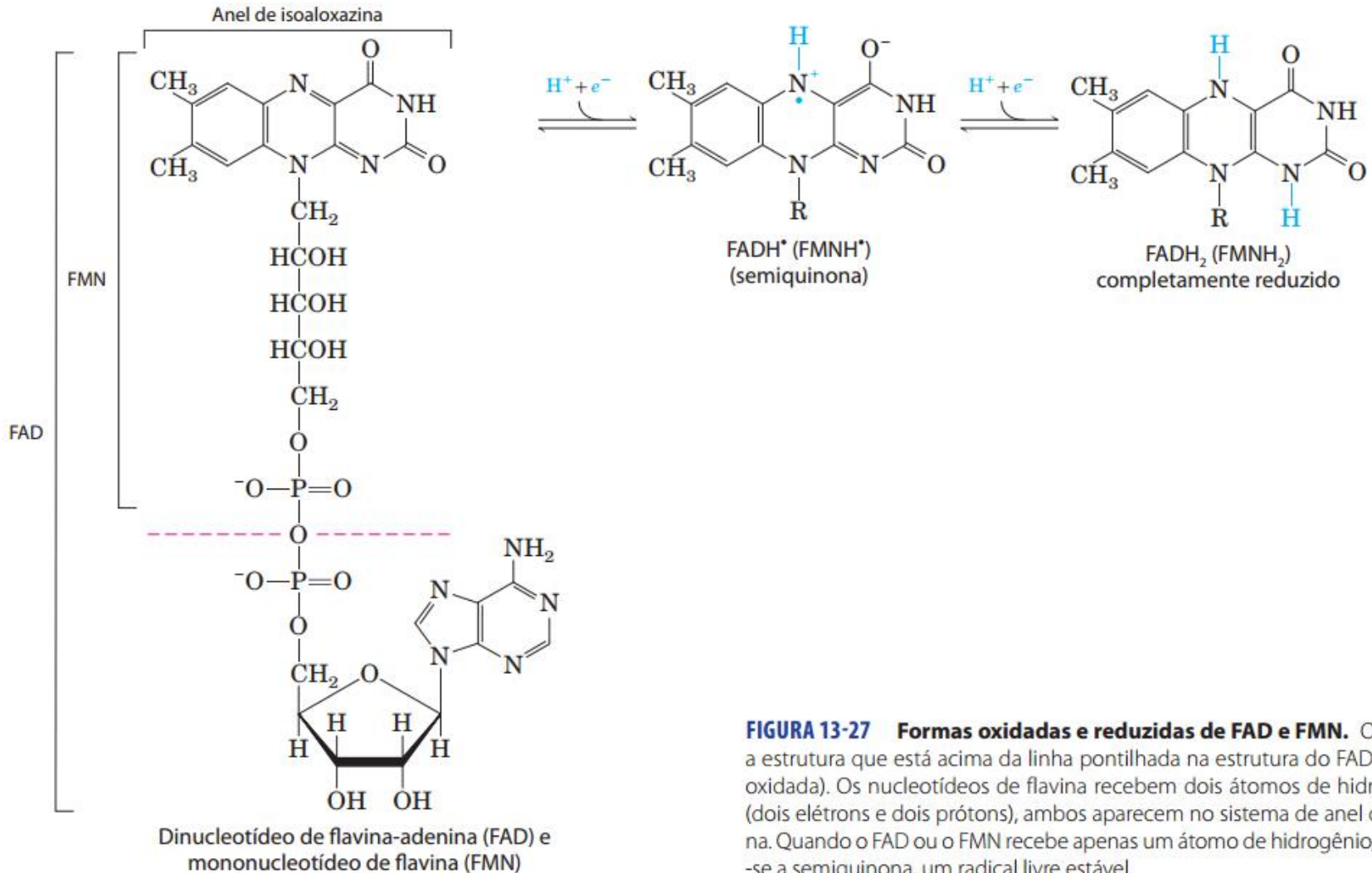
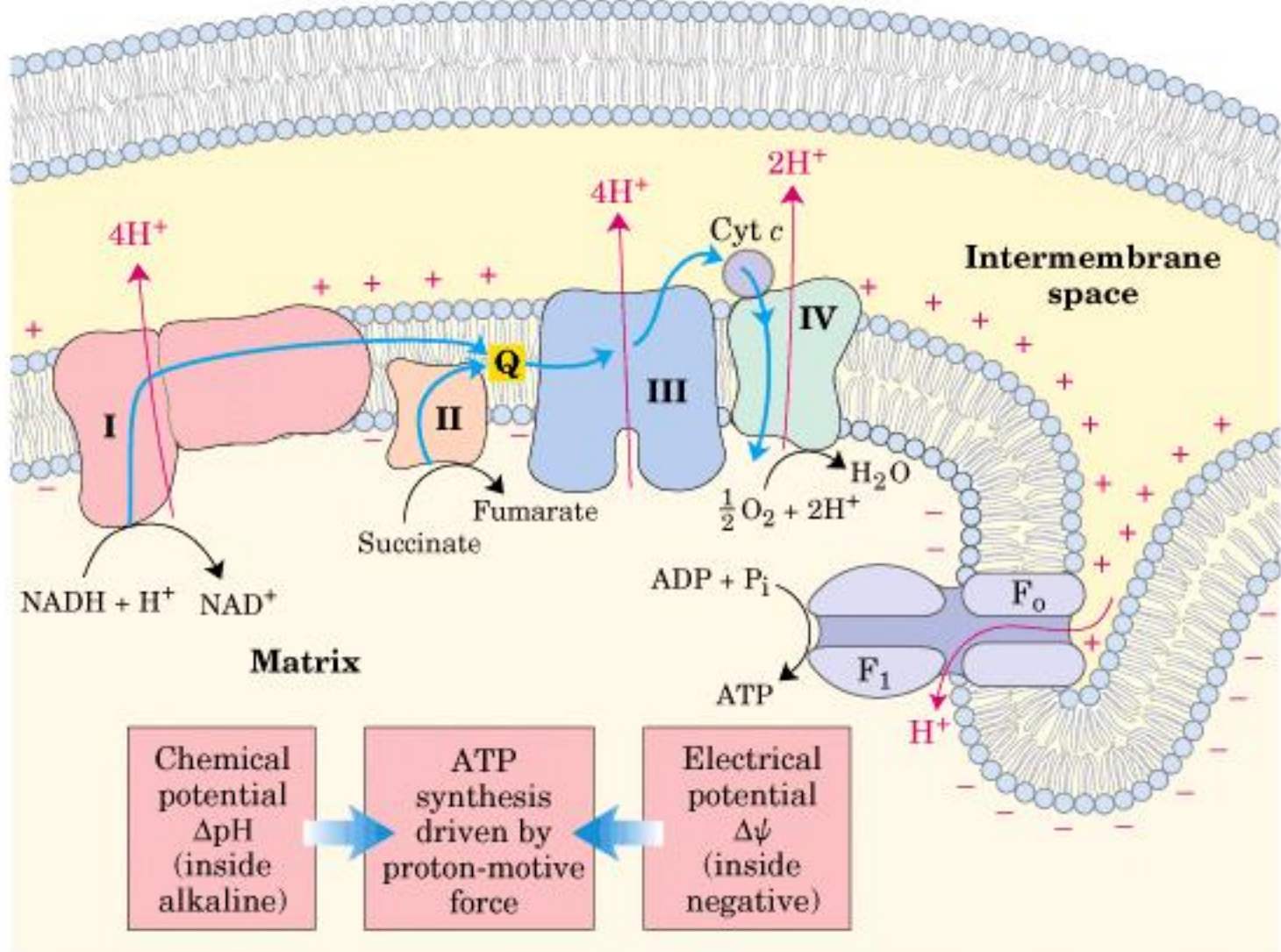


FIGURA 13-27 Formas oxidadas e reduzidas de FAD e FMN. O FMN é a estrutura que está acima da linha pontilhada na estrutura do FAD (forma oxidada). Os nucleotídeos de flavina recebem dois átomos de hidrogênio (dois elétrons e dois prótons), ambos aparecem no sistema de anel da flavina. Quando o FAD ou o FMN recebe apenas um átomo de hidrogênio, forma-se a semiquinona, um radical livre estável.

Além dos carreadores já citados anteriormente...

Existem 3 outros tipos de moléculas carreadores de elétrons na cadeia respiratória



Existem 3 outros tipos de moléculas carreadores de elétrons na cadeia respiratória

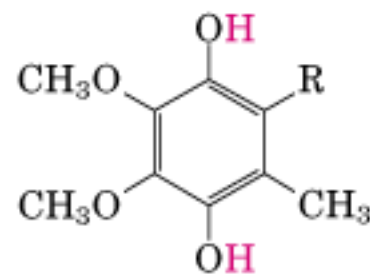
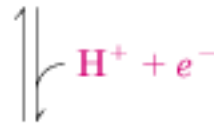
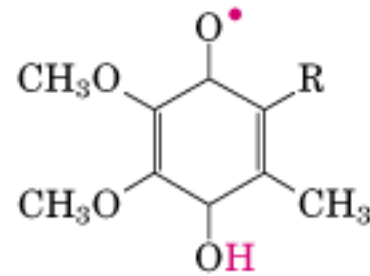
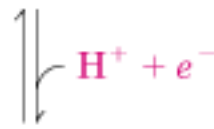
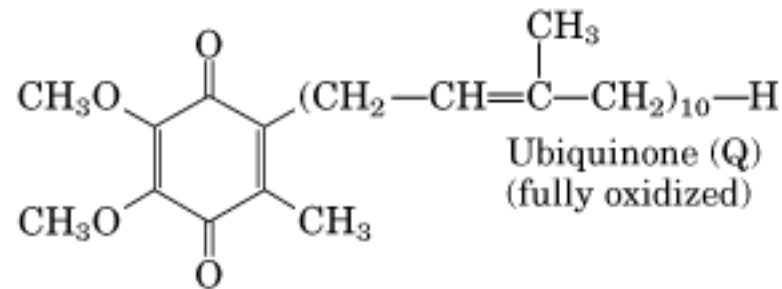
I) Coenzima Q

ou

Ubiquinona

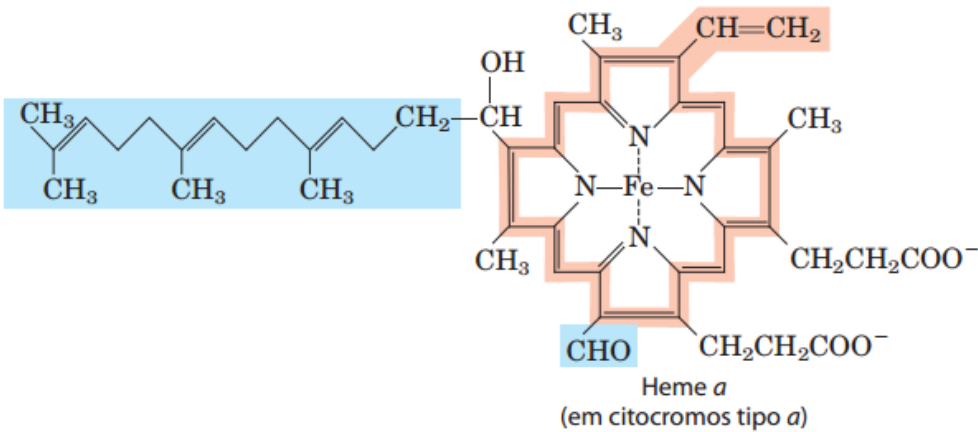
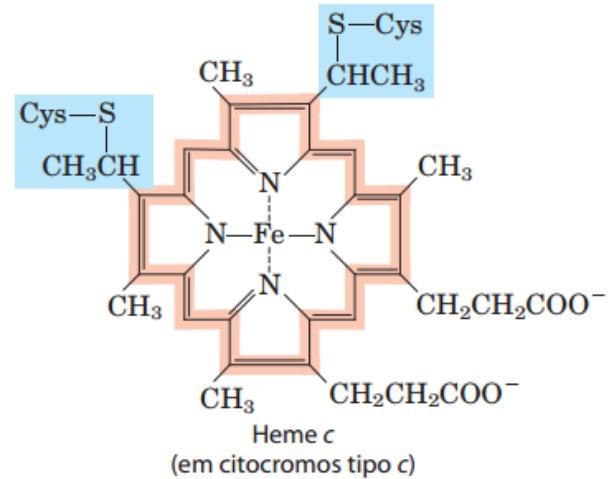
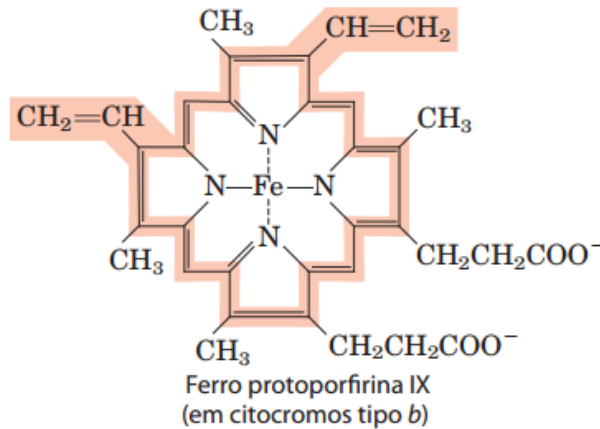
ou

“Q”



II) Porfirinas nos citocromos

(a)



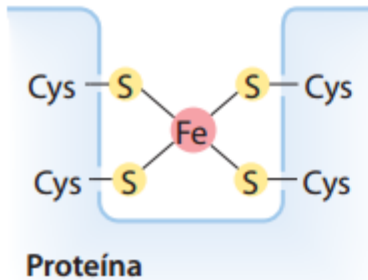
Fe^{2+} (red)
ou
 Fe^{3+} (ox)

FIGURA 19-4 Grupos prostéticos dos citocromos. (a) Cada grupo consiste em quatro anéis

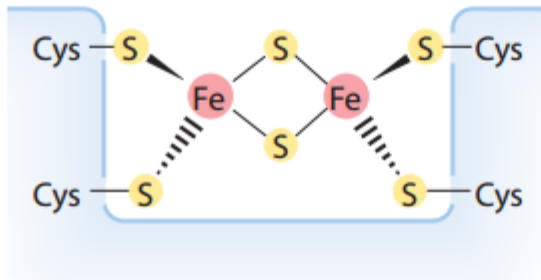
III) Proteínas ferro-enxofre (Fe-S)

Fe^{2+} (red)/ Fe^{3+} (ox)

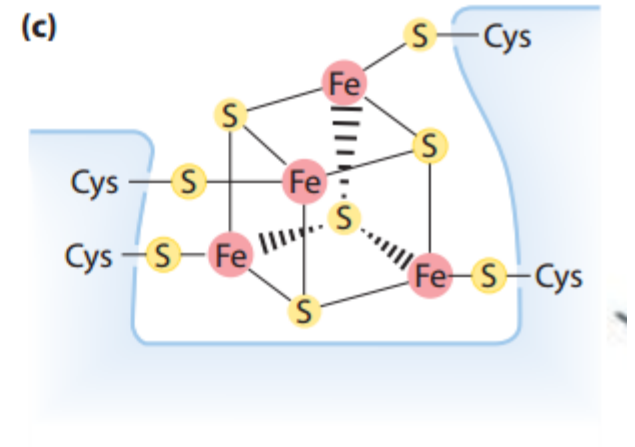
(a)



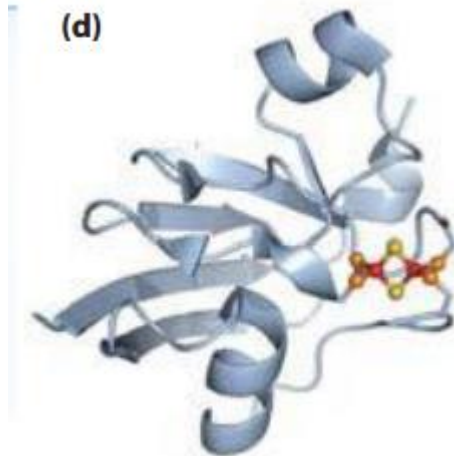
(b)



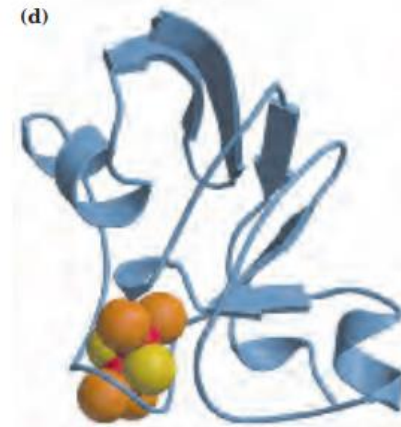
(c)



(d)



(d)



Potenciais de redução de meia reações da cadeia respiratória

TABELA 19-2 Potenciais de redução padrão da cadeia respiratória e de carregadores de elétrons relacionados

Reação redox (meia-reação)	E'° (V)
$2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2$	-0,414
$\text{NAD}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH}$	-0,320
$\text{NADP}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADPH}$	-0,324
$\text{NADH-desidrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH-desidrogenase (FMNH}_2)$	-0,30
$\text{Ubiquinona} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0,045
$\text{Citocromo } b (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } b (\text{Fe}^{2+})$	0,077
$\text{Citocromo } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0,22
$\text{Citocromo } c (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } c (\text{Fe}^{2+})$	0,254
$\text{Citocromo } a (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } a (\text{Fe}^{2+})$	0,29
$\text{Citocromo } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0,35
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,8166

E° : Potencial de óxido redução padrão: a tendência de um par redox em perder ou ganhar elétrons, para concentrações 1 M da forma oxidada e 1 M da forma reduzida.

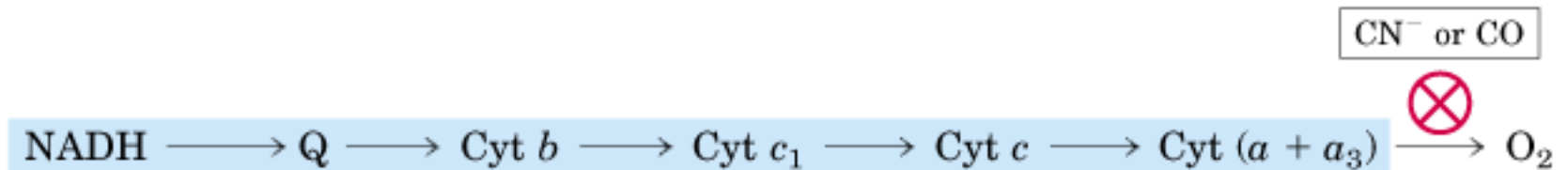
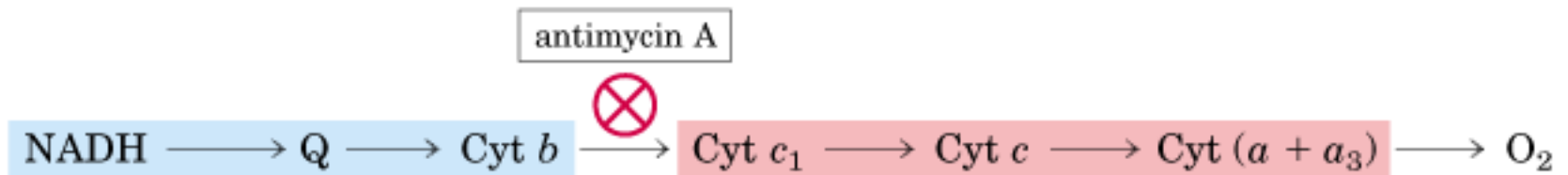
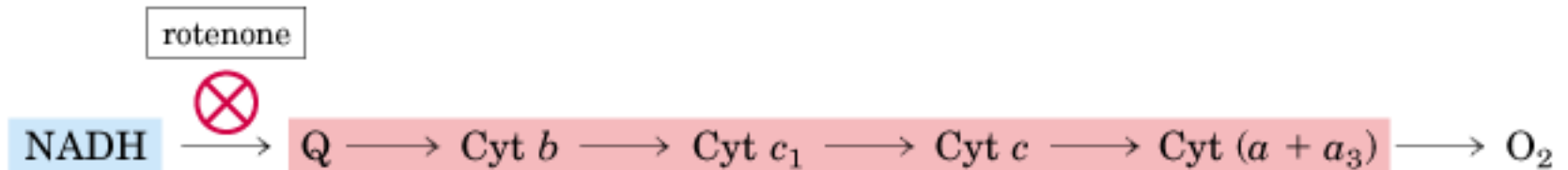
Medida de afinidade para e^{-} da molécula/ion sendo reduzida

$$\Delta E'^{\circ} = E'^{\circ} (\text{aceitor de } e^{-}) - E'^{\circ} (\text{doador de } e^{-})$$

Se $\Delta E > 0$, reação tende ir para frente

Método para determinação da seqüência de carregadoras de elétrons

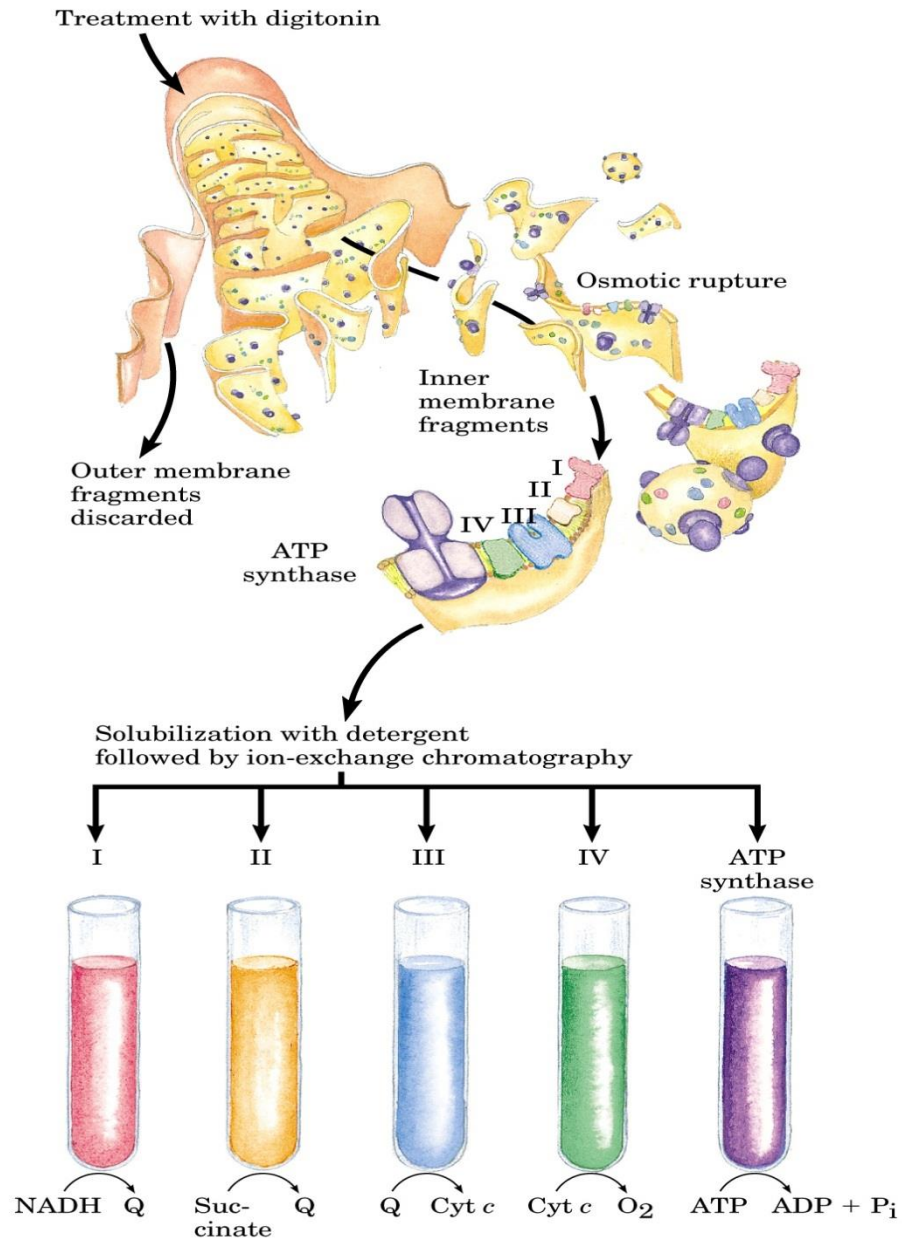
>----- E° ----->



reduzida

oxidada

Separação dos complexos funcionais da cadeia respiratória



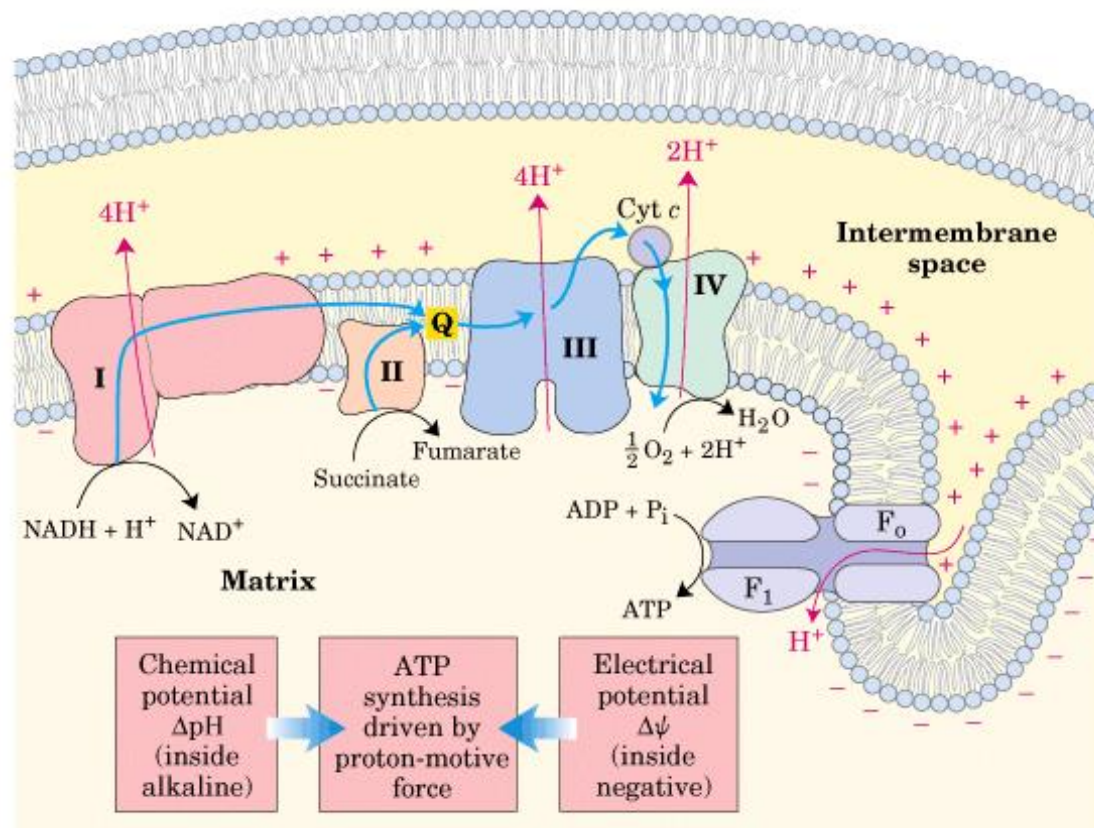
Reações catalizados por frações isolados in vitro

TABELA 19-3 Os componentes proteicos da cadeia mitocondrial de transferência de elétrons

Proteína/complexo enzimático	Massa (kDa)	Número de subunidades*	Grupo(s) prostético(s)
I NADH-desidrogenase	850	43 (14)	FMN, Fe-S
II Succinato-desidrogenase	140	4	FAD, Fe-S
III Ubiquinona: citocromo <i>c</i> -oxidorreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Citocromo <i>c</i> [†]	13	1	Heme
IV Citocromo-oxidase	160	13 (3-4)	Hemes; Cu _A , Cu _B

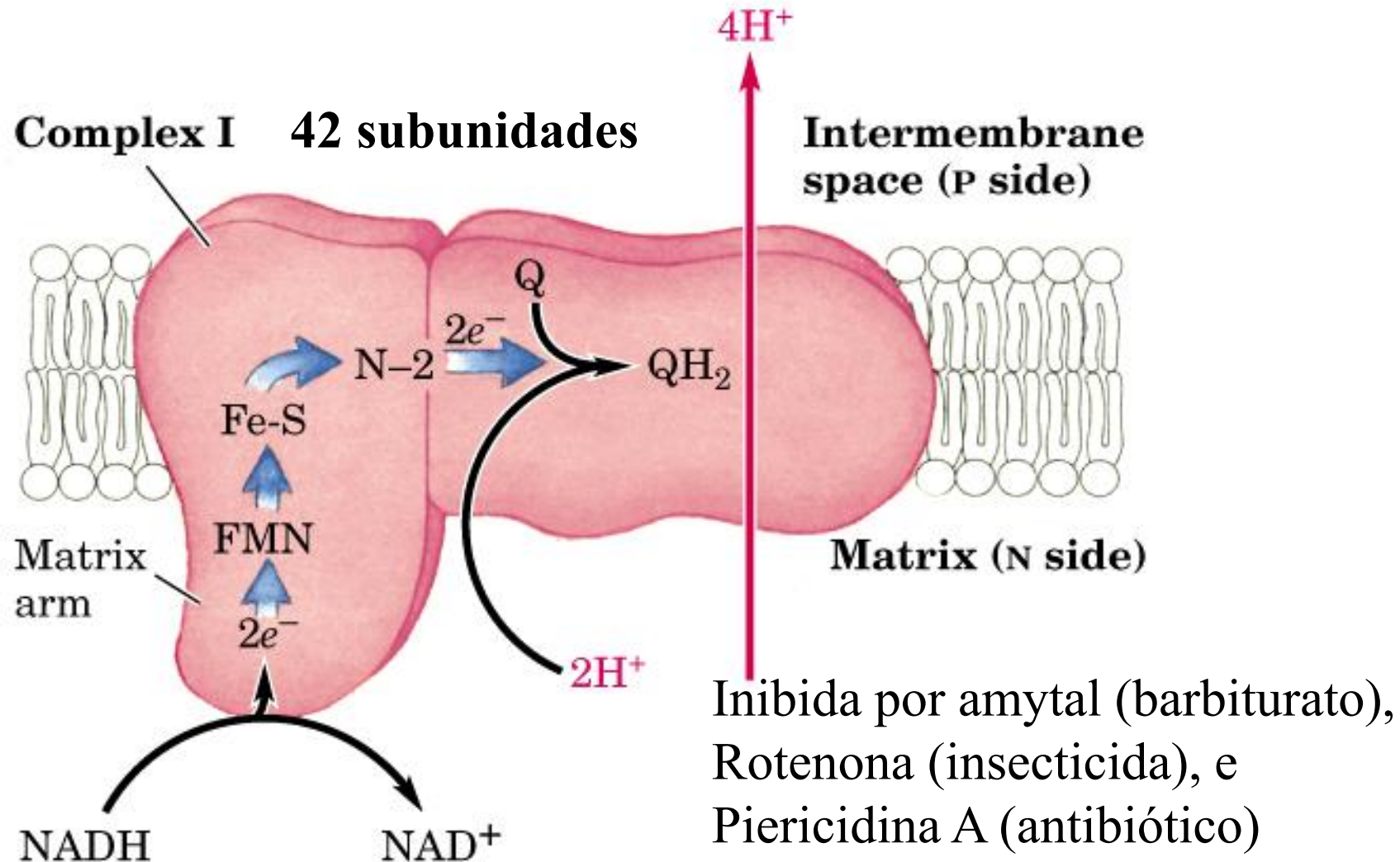
*Número de subunidades em equivalentes bacterianos entre parênteses.

[†]O citocromo *c* não é parte do *c*



Complexo I - NADH:ubiquinona oxidoreductase

Uma bomba de prótons – utiliza a energia de transferência de elétrons para criar um gradiente de H^+ através da membrana. A energia de transferência de e^- está momentaneamente guardada na forma desta gradiente.



Complexo I:
recebe e⁻ de
NADH e
transfere
para citQ

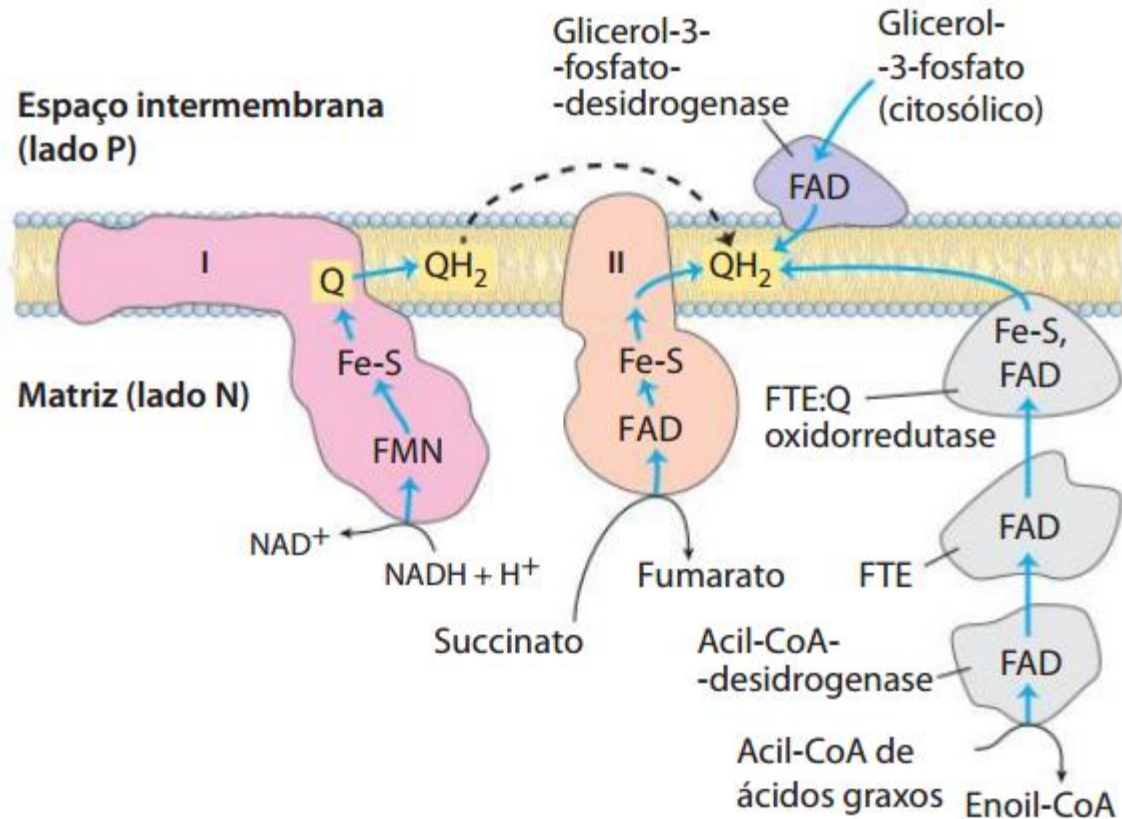


FIGURA 19-8 Via dos elétrons de NADH, succinato, acil-CoA de ácidos graxos e glicerol-3-fosfato para a ubiquinona. Ubiquinona (Q) é o pon-

Complexo II:
Recebe e⁻ de FADH₂
(em succinato desidrogenase no ciclo de Krebs)
e transfere para cytQ.

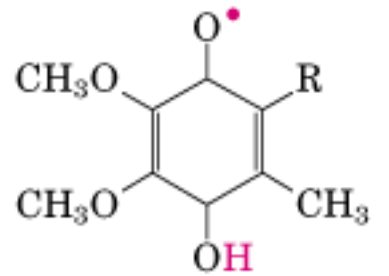
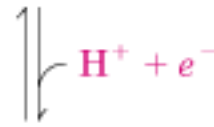
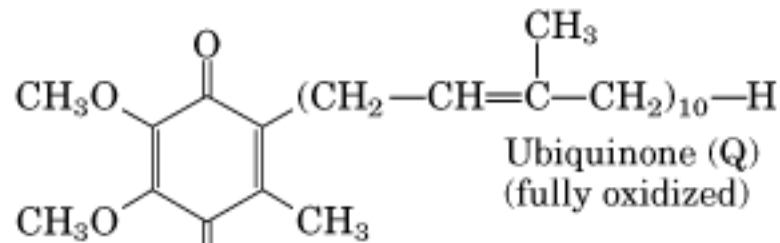
Coenzima Q

ou

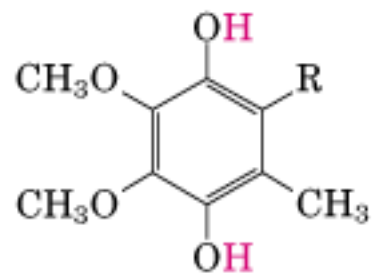
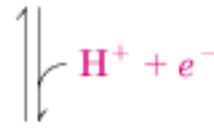
Ubiquinona

ou

“Q”

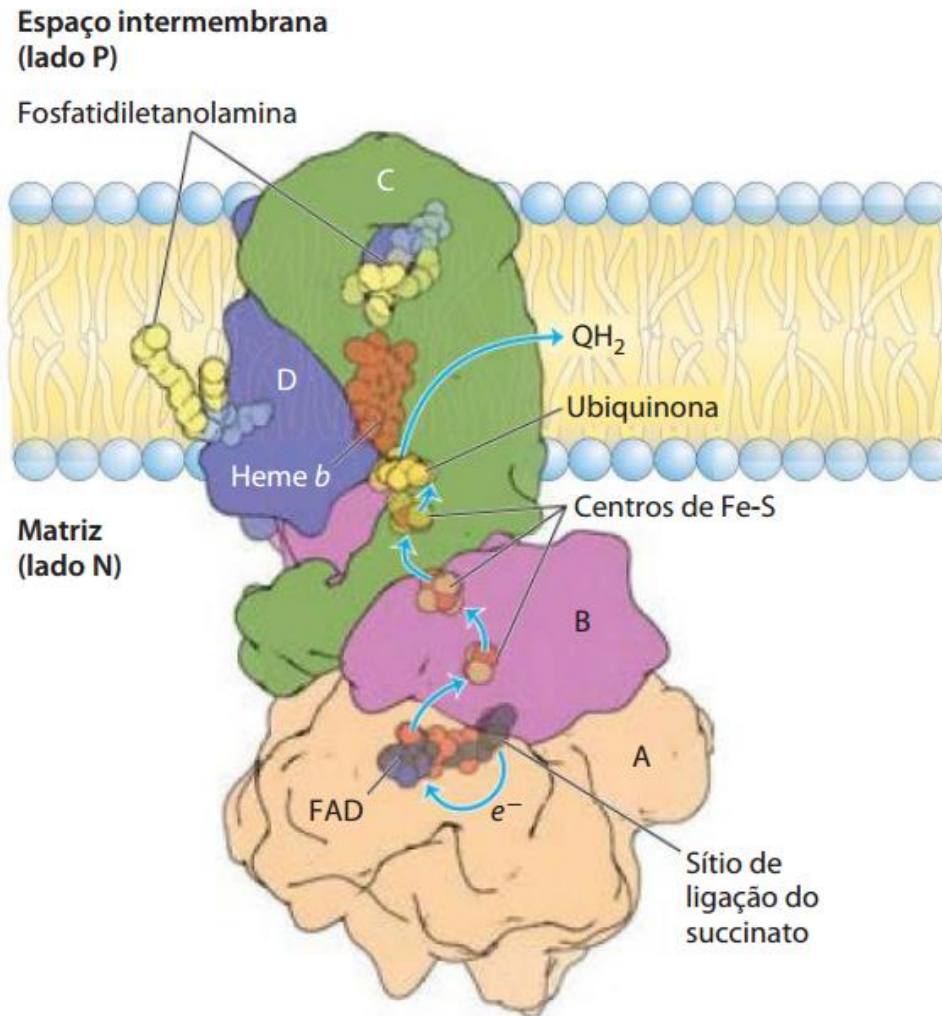


Semiquinone radical
(QH[•])



Ubiquinol (QH₂)
(fully reduced)

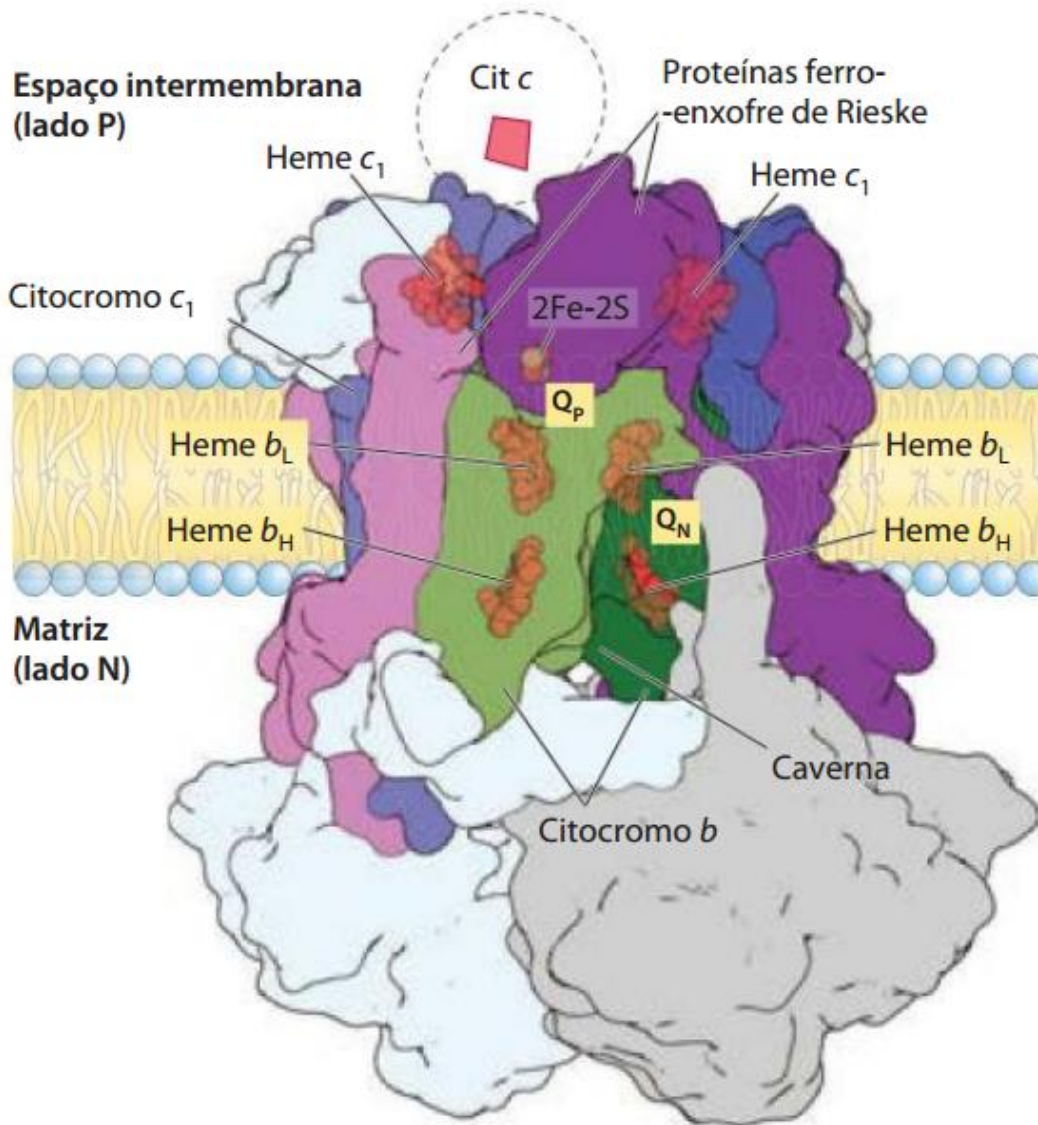
Complexo II - succinato desidrogenase



Complexo II:
Recebe e⁻ de
FADH₂
(em succinato
desidrogenase no ciclo
de Krebs)
e transfere para
cytQ.

FIGURA 19-10 Estrutura do complexo II (succinato-desidrogenase). (PDB ID 1ZOY) Este complexo (aqui está apresentada a enzima do co-

Complexo III - ubiquinona: Citocromo C Oxidoreductase



Acopla a transferência de elétrons da ubiquinona (QH₂) para o citocromo c com o transporte de prótons (4) da matriz para o espaço intermembranar

Complexo IV - Citocromo oxidase: transfere e- de CitC para O₂, formando H₂O

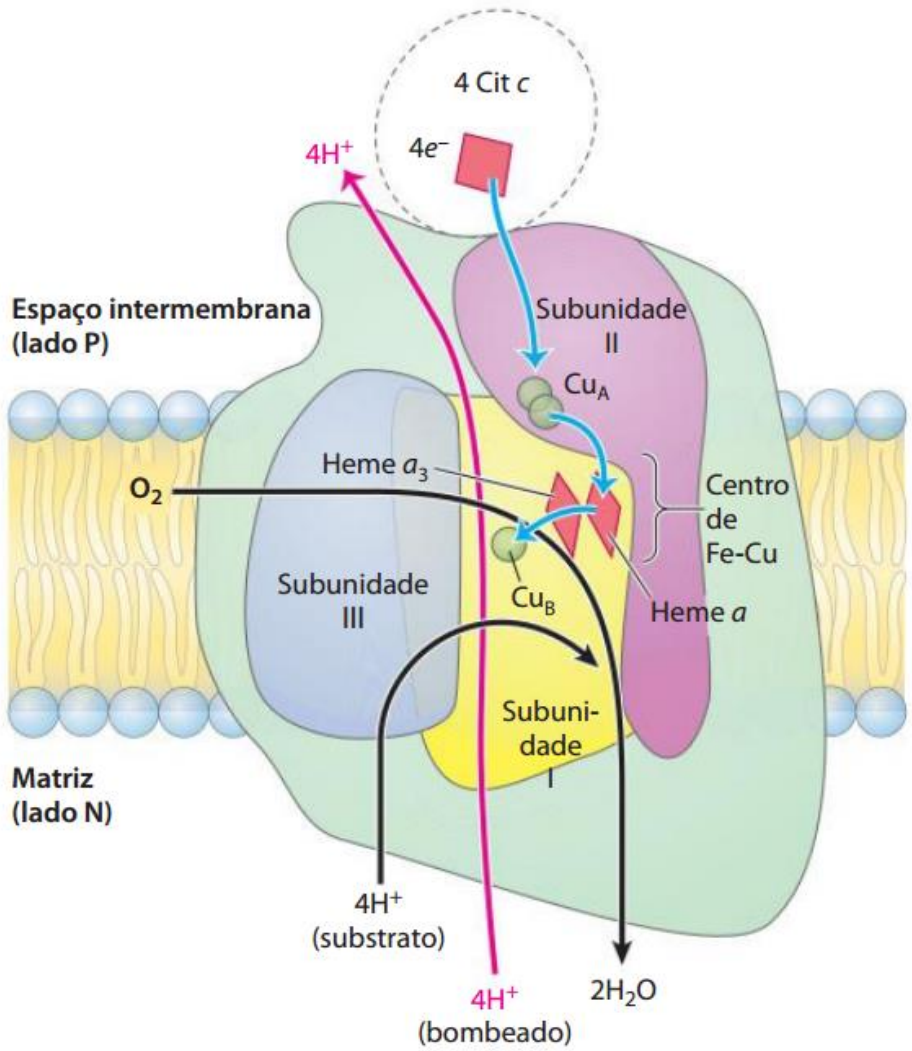


FIGURA 19-14 Via dos elétrons pelo complexo IV. As três proteínas cru-



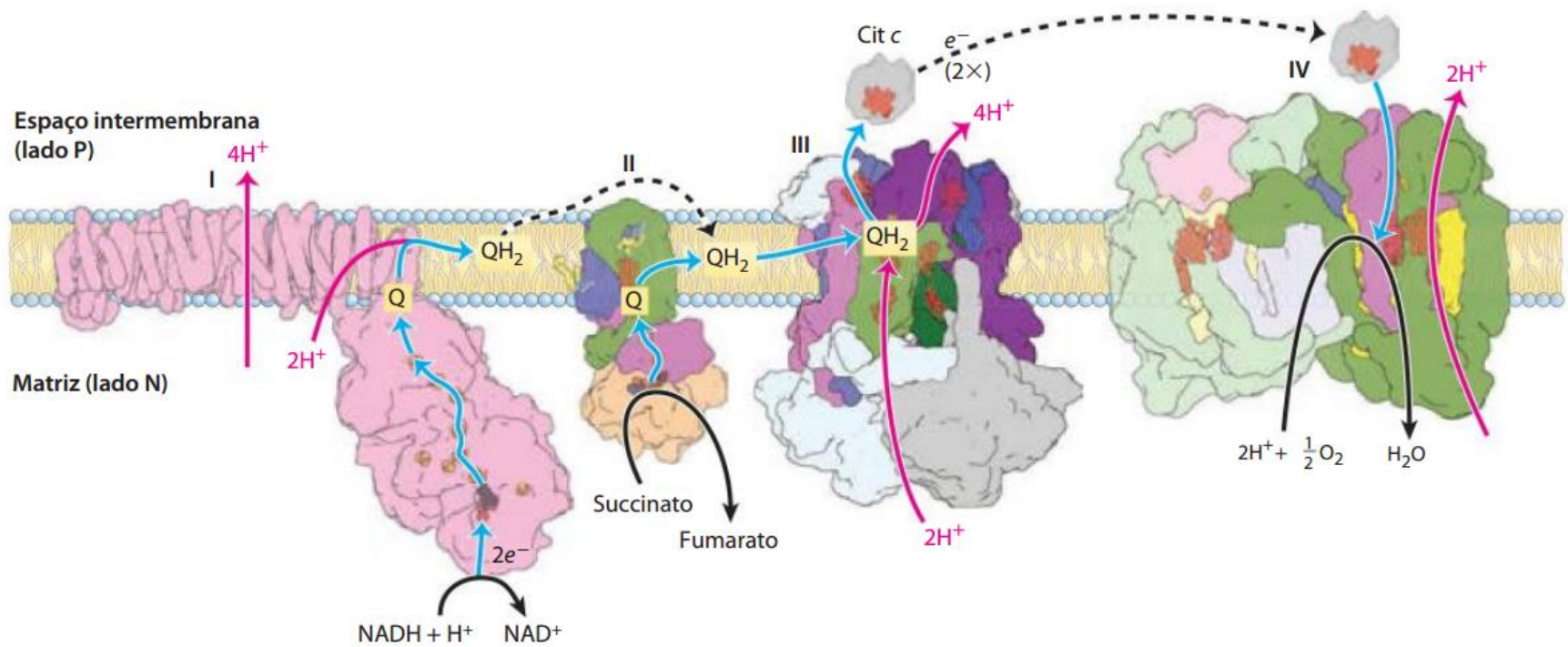
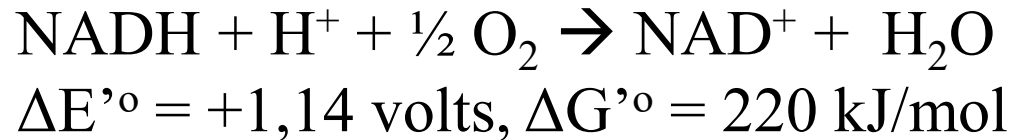
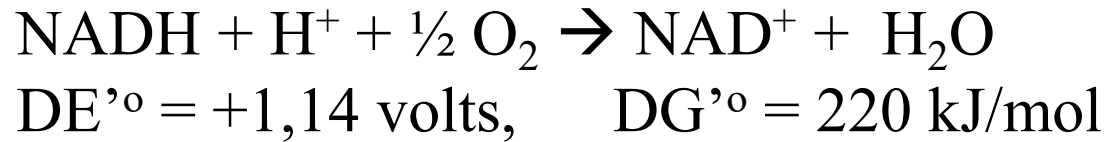


FIGURA 19-16 Resumo do fluxo de elétrons e prótons pelos quatro complexos da cadeia respiratória.



Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox NAD^+/NADH , E'° é $-0,320 \text{ V}$, e, para o par $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, E'° é $0,816 \text{ V}$. O $\Delta E'^{\circ}$ para esta reação é, portanto, $1,14 \text{ V}$, e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$



Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox NAD^+/NADH , E'° é $-0,320 \text{ V}$, e, para o par $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, E'° é $0,816 \text{ V}$. O $\Delta E'^{\circ}$ para esta reação é, portanto, $1,14 \text{ V}$, e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$

Mas esse número é maior! (mais negativa)





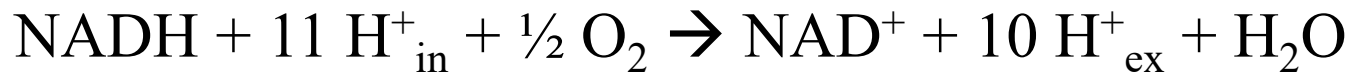
Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox NAD^+/NADH , E'° é $-0,320 \text{ V}$, e, para o par $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, E'° é $0,816 \text{ V}$. O $\Delta E'^{\circ}$ para esta reação é, portanto, $1,14 \text{ V}$, e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$

Mas esse número é maior! (mais negativa)



Energia liberado pela oxidação é guardado na forma de um gradiente de H^+ .



“Força protomotiva” = $\Delta G = RT \ln(C_p/C_n) + ZFDy = 200 \text{ kJ per } 10 \text{ H}^+$

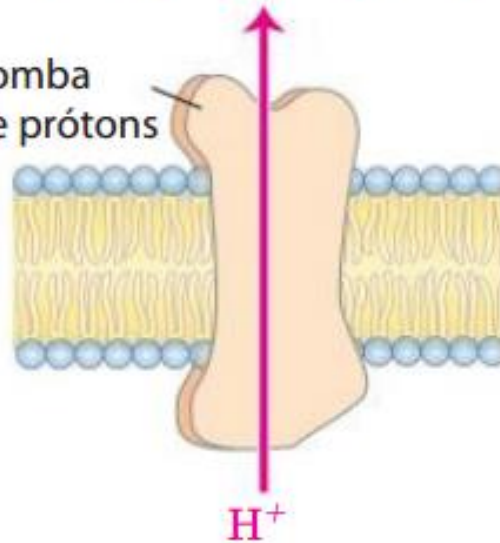
↗
↖

Energia da gradiente de H^+ ($DpH=0,75$)
 Energia de diferença de carga ($Dy=0,2 \text{ V}$)

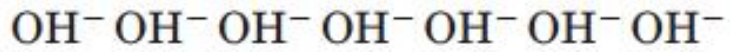
Lado P
 $[H^+]_P = C_2$



Bomba
de prótons



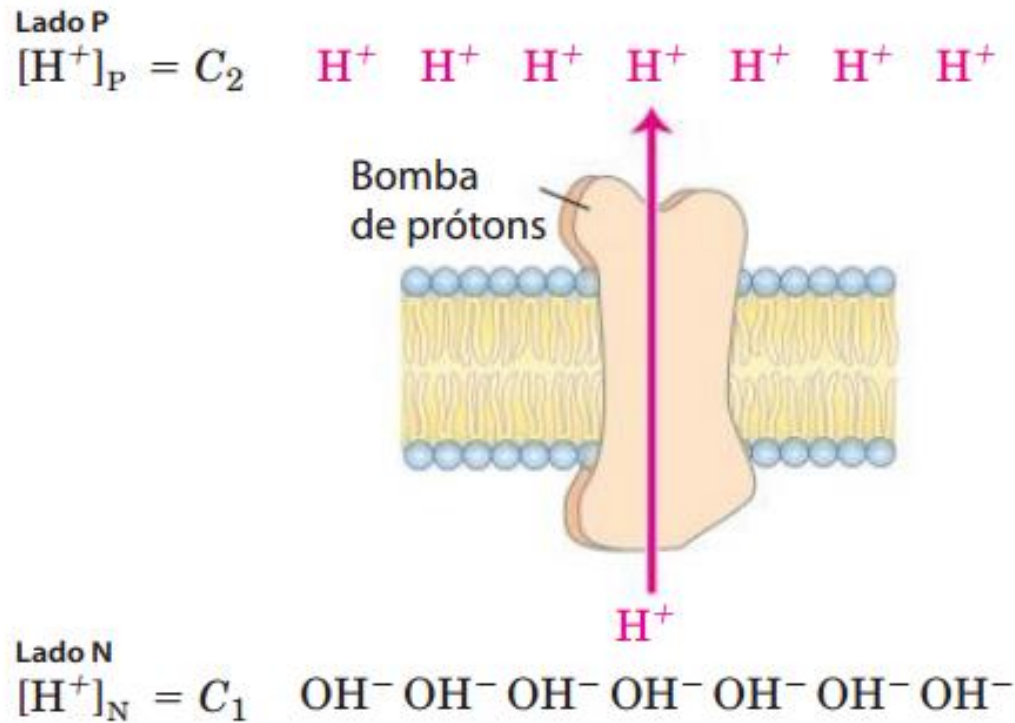
Lado N
 $[H^+]_N = C_1$



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z \mathcal{F} \Delta \psi$$

$$= 2,3RT \Delta pH + \mathcal{F} \Delta \psi$$

FIGURA 19-17 Força próton-motriz.



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z \mathcal{F} \Delta \psi$$

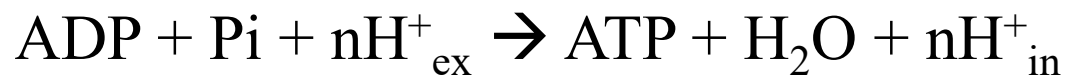
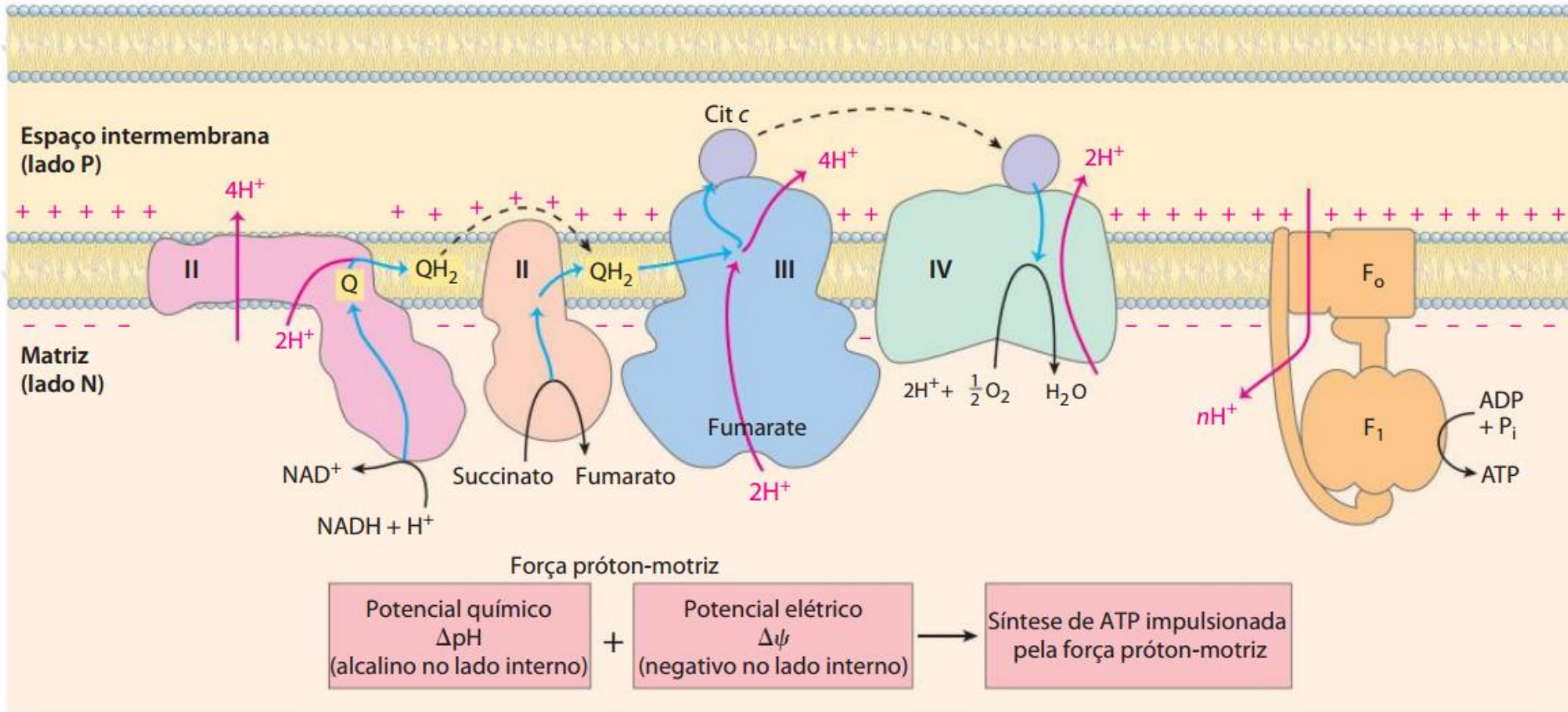
$$= 2,3RT \Delta pH + \mathcal{F} \Delta \psi$$

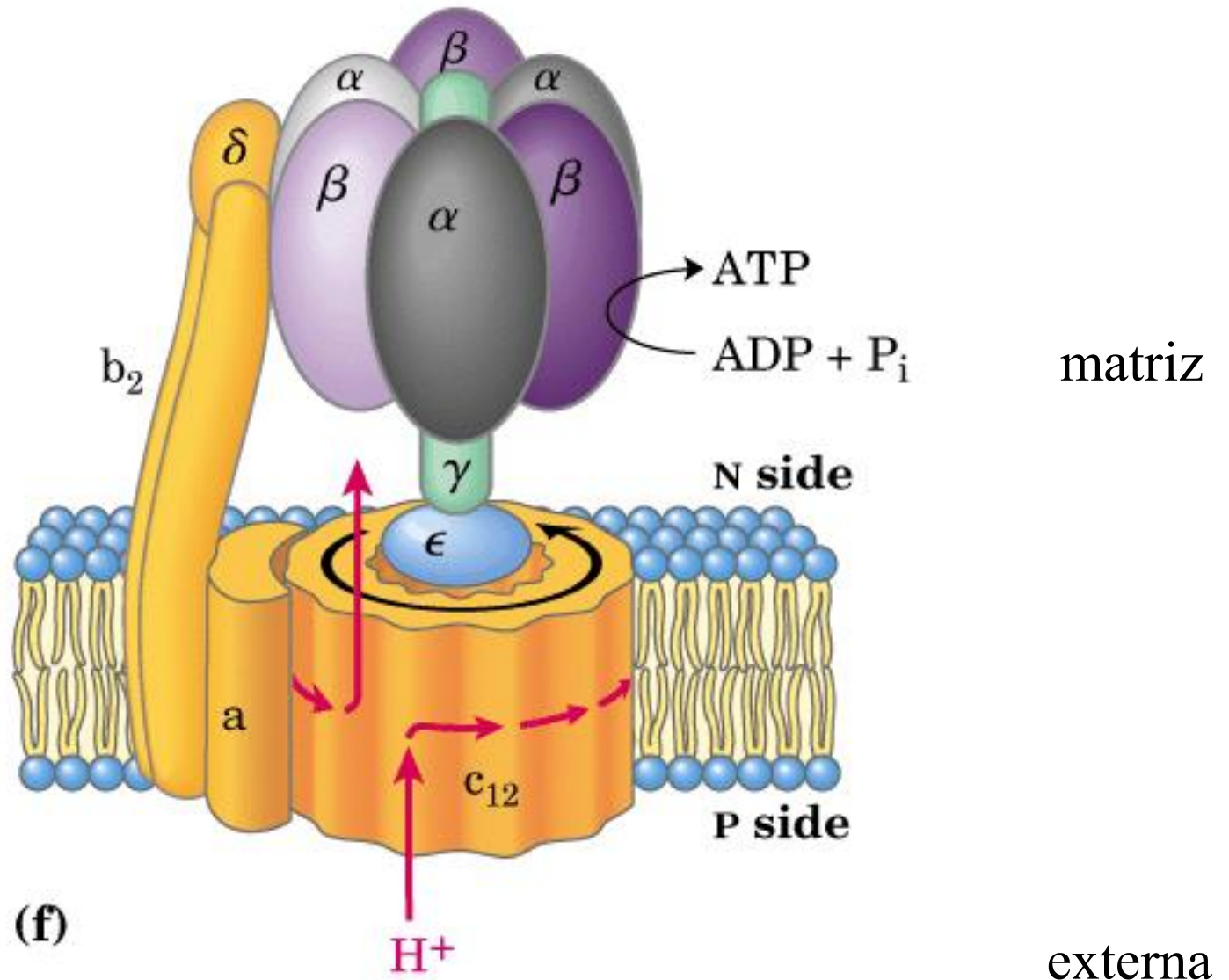
FIGURA 19-17 Força próton-motriz.

Energia estocada no gradiente

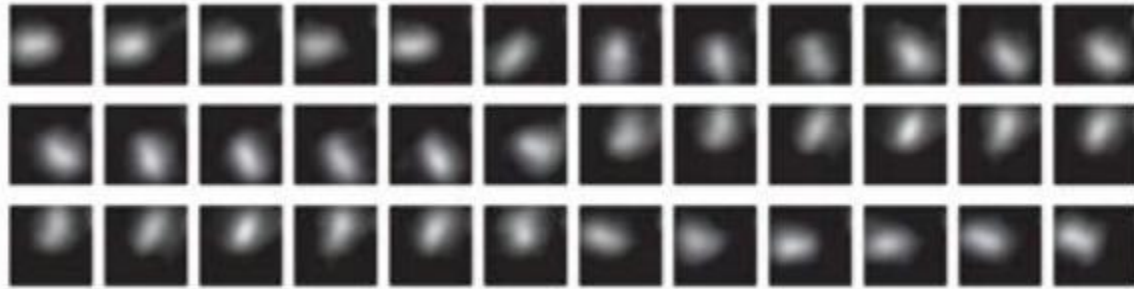
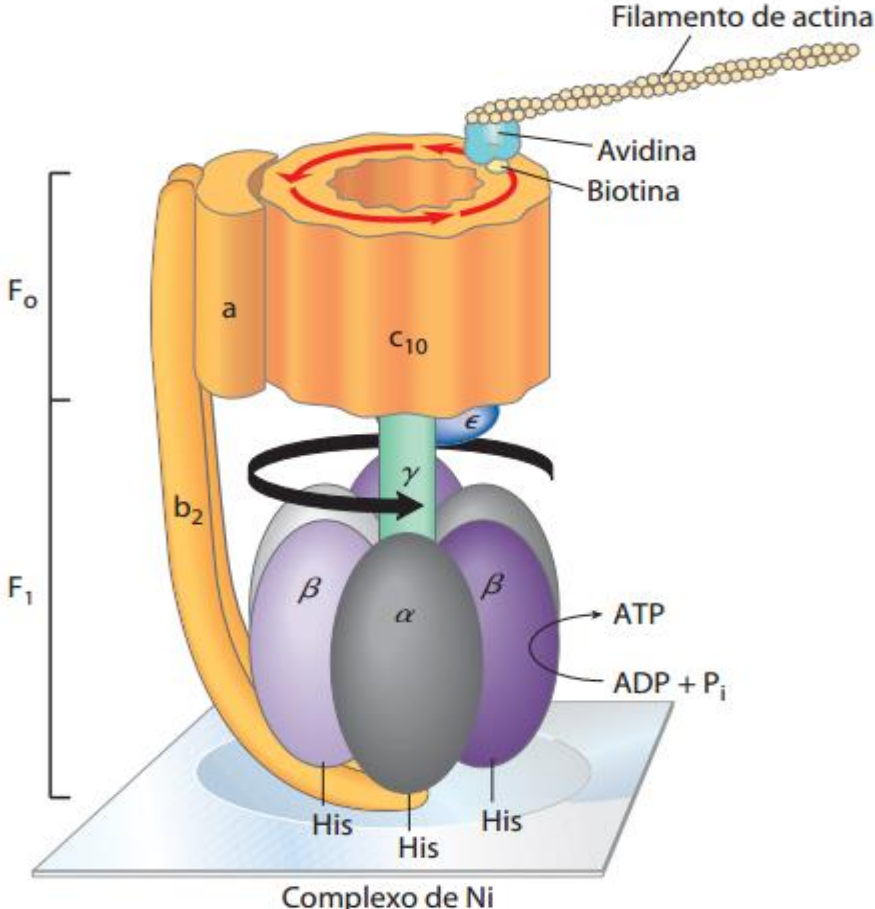
- Energia potencial química
- Energia potencial elétrica

“Modelo quimiosmótico” de geração de ATP a partir de gradiente de H⁺





γ ou C-biotina-avidin-actina (fluorescente)



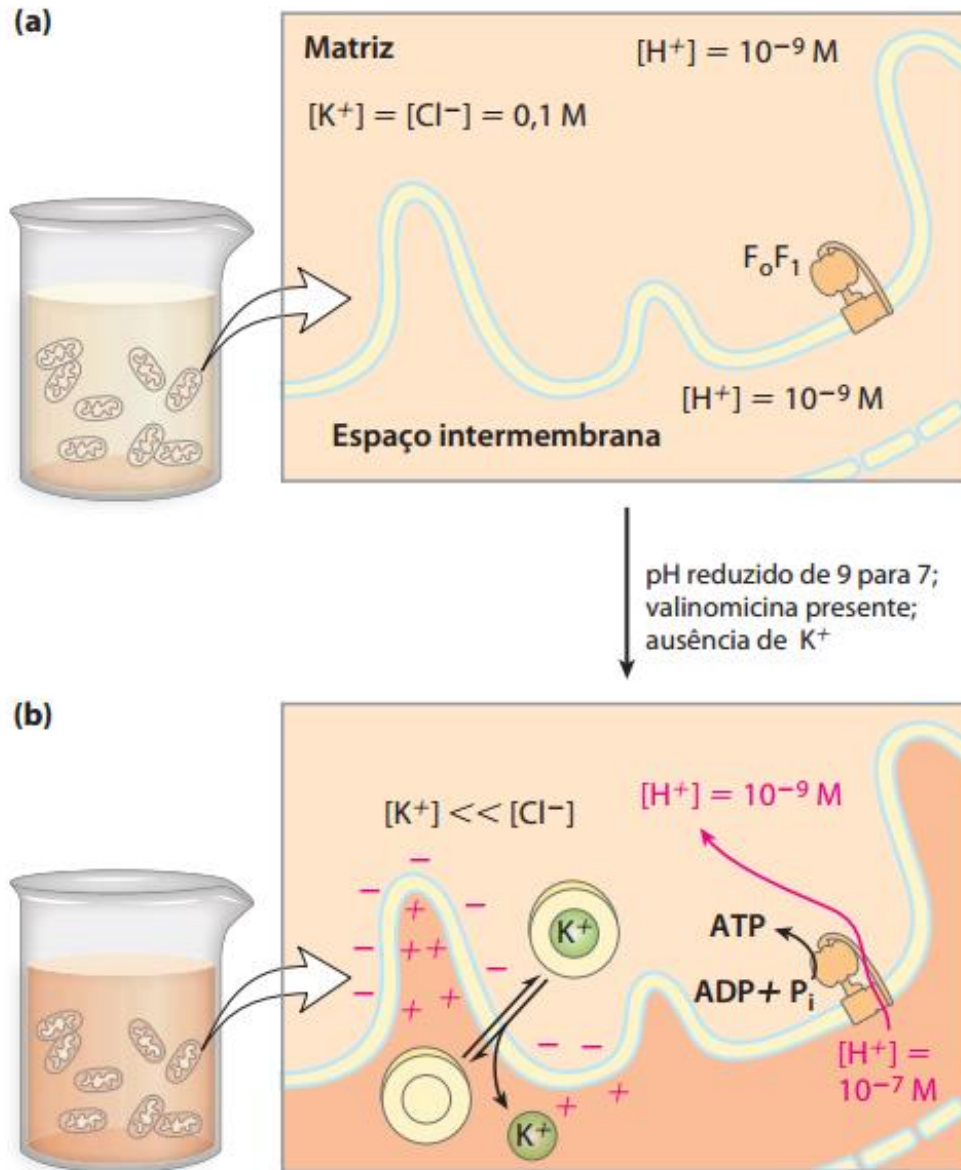


FIGURA 19-22 Evidência para o papel de um gradiente de prótons na síntese de ATP.

<https://www.youtube.com/watch?v=A2my52zQA6k>

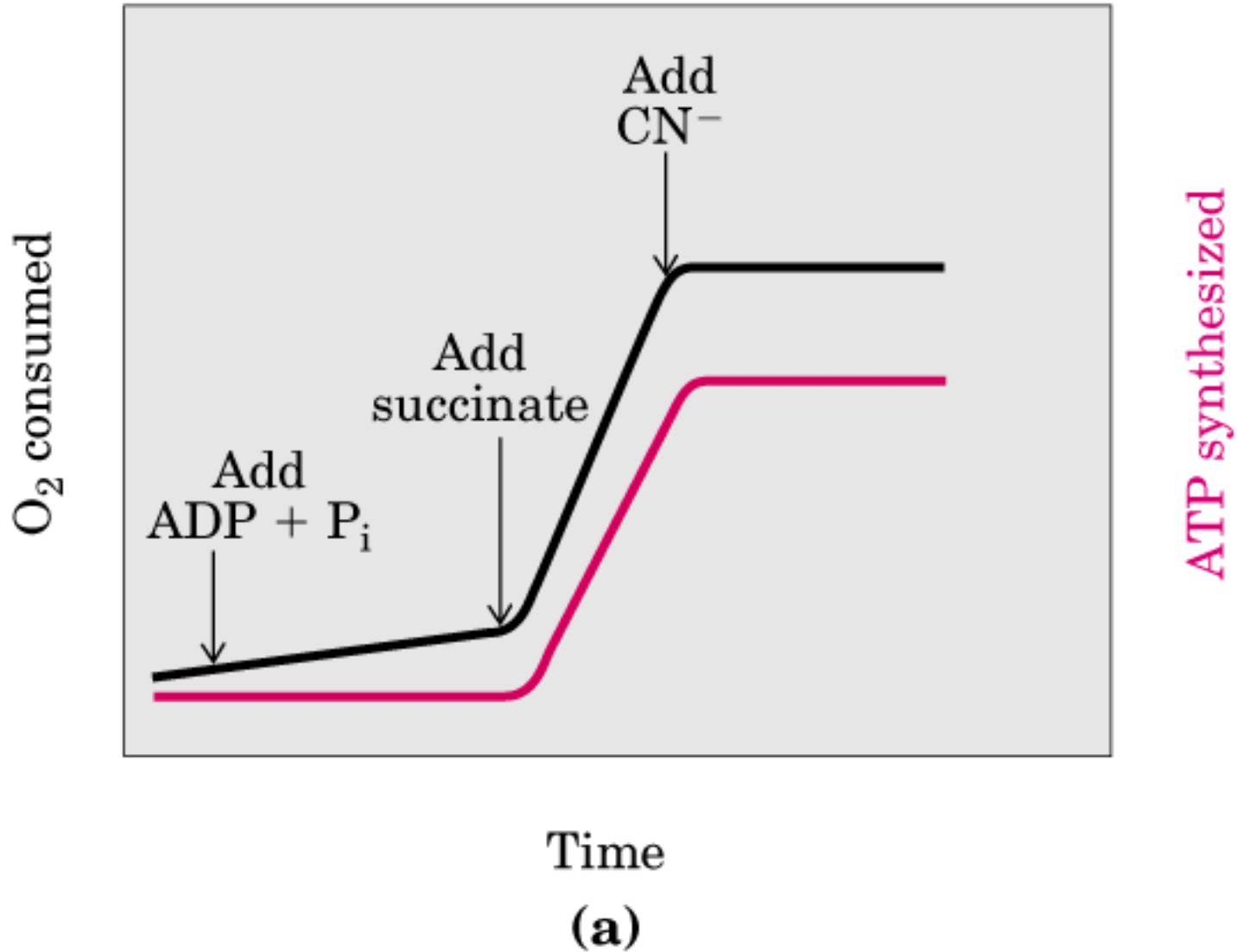
table 19-4

Some Agents That Interfere with Oxidative Phosphorylation or Photophosphorylation

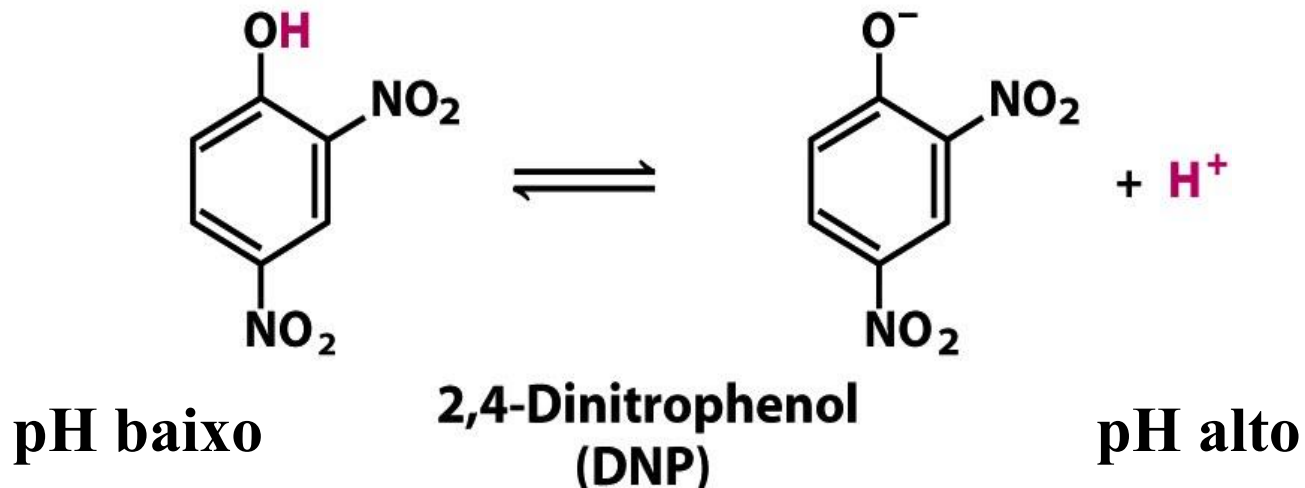
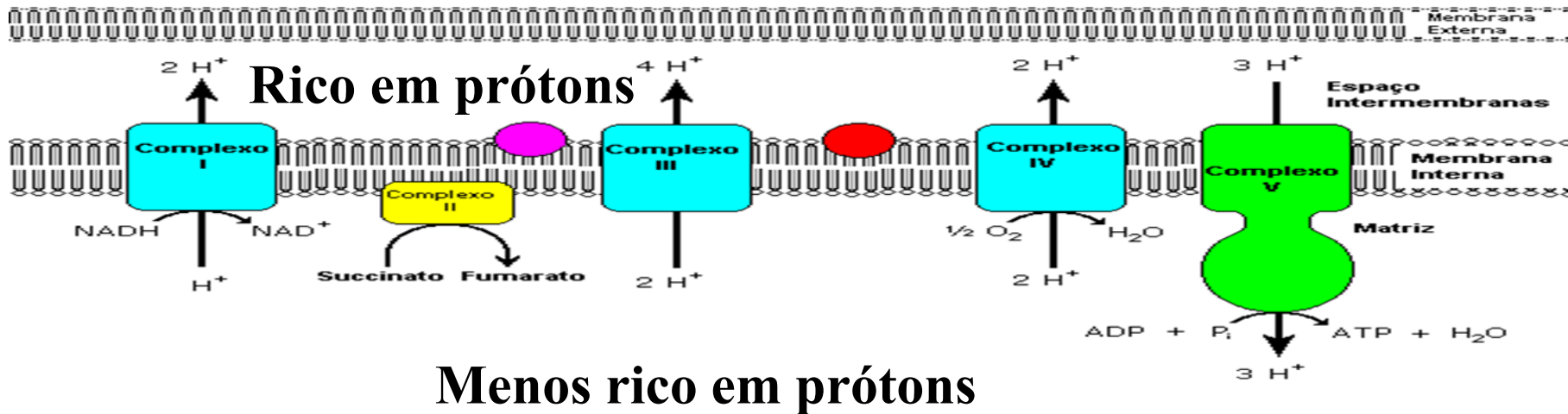
Type of interference	Compound*	Target/mode of action
Inhibition of electron transfer	Cyanide	Inhibit cytochrome oxidase
	Carbon monoxide	
Inhibition of ATP synthase	Antimycin A	Blocks electron transfer from cytochrome <i>b</i> to cytochrome <i>c</i> ₁
	Myxothiazol	Prevent electron transfer from Fe-S center to ubiquinone
	Rotenone	
	Amytal	
	Piericidin A	
		DCMU
	Aurovertin	Inhibits F ₁
Uncoupling of phosphorylation from electron transfer	Oligomycin	Inhibit F ₀ and CF ₀
	Venturicidin	
	DCCD	Blocks proton flow through F ₀ and CF ₀
	FCCP	Hydrophobic proton carriers
	DNP	
	Valinomycin	K ⁺ ionophore
	Thermogenin	Forms proton-conducting pores in inner membrane of brown fat mitochondria
Inhibition of ATP-ADP exchange	Atractyloside	Inhibits adenine nucleotide translocase

*DCMU is 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea; DCCD, dicyclohexylcarbodiimide; FCCP, cyanide-*p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone; DNP, 2,4-dinitrophenol.

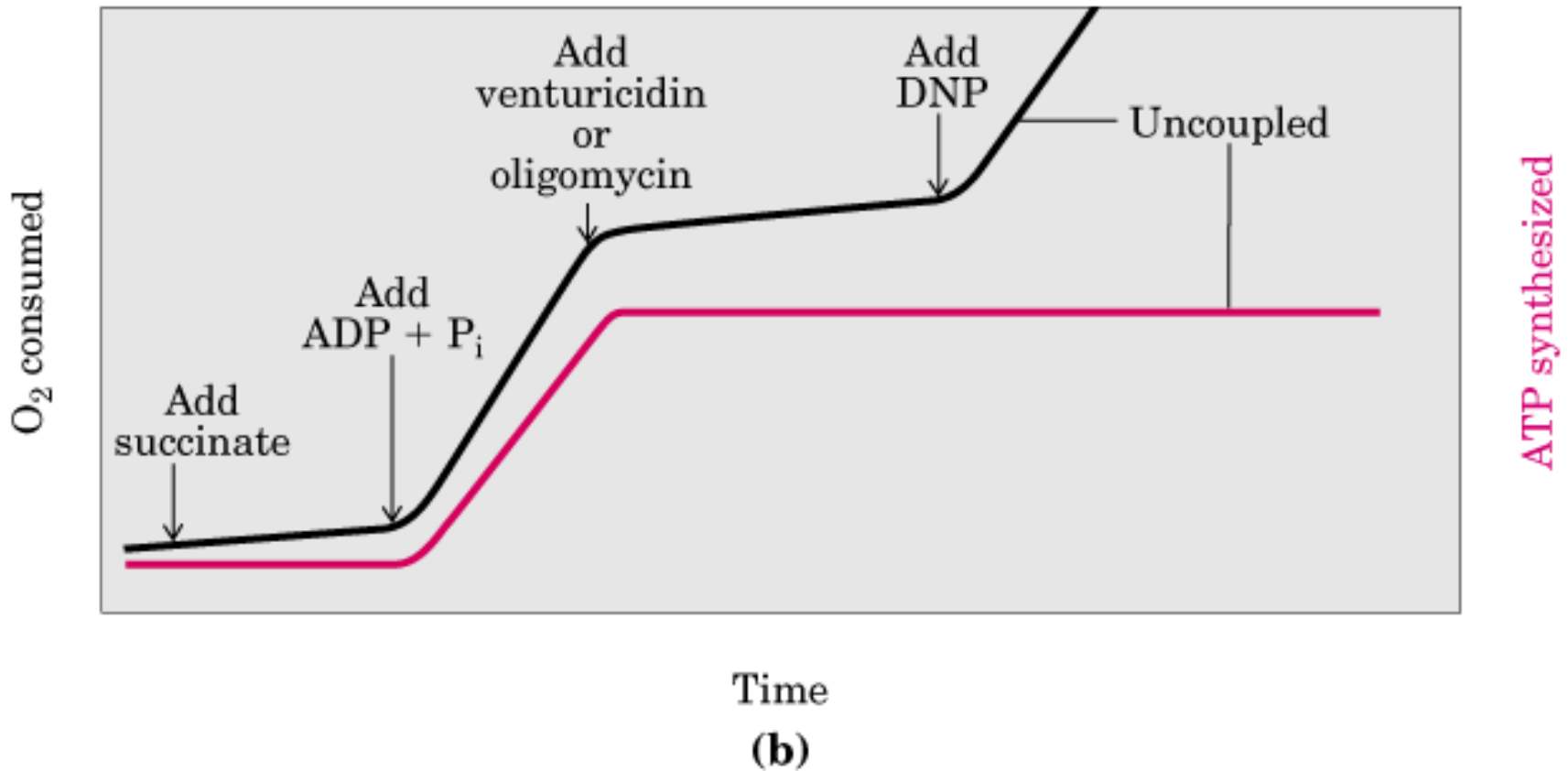
Acoplamento de síntese de ATP e consumo de O₂



Desacoplador DNP



Desacoplamento de consumo de O_2 e a síntese de ATP



Perigosa pílula que promete queimar gordura volta à moda entre os jovens

Da BBC Mundo

🕒 20 dezembro 2015



 Compartilhar



THINKSTOCK

Muitos consumiam o DNP na década de 30 para perder peso mas a substância foi proibida depois de ser considerada 'extremamente perigosa' (Foto: Thinkstock)

O aumento do consumo de um perigoso composto que promete "queimar" a gordura do corpo está preocupando autoridades de saúde pública em todo o mundo.

A substância 2,4-dinitrofenol, mais conhecida como DNP, era usada originalmente para a fabricação de explosivos, mas está sendo cada vez mais comercializada de forma ilegal pela internet em forma de cápsulas, pó ou creme, sendo procurada por pessoas que querem emagrecer ou reduzir a porcentagem de gordura em seu corpo.

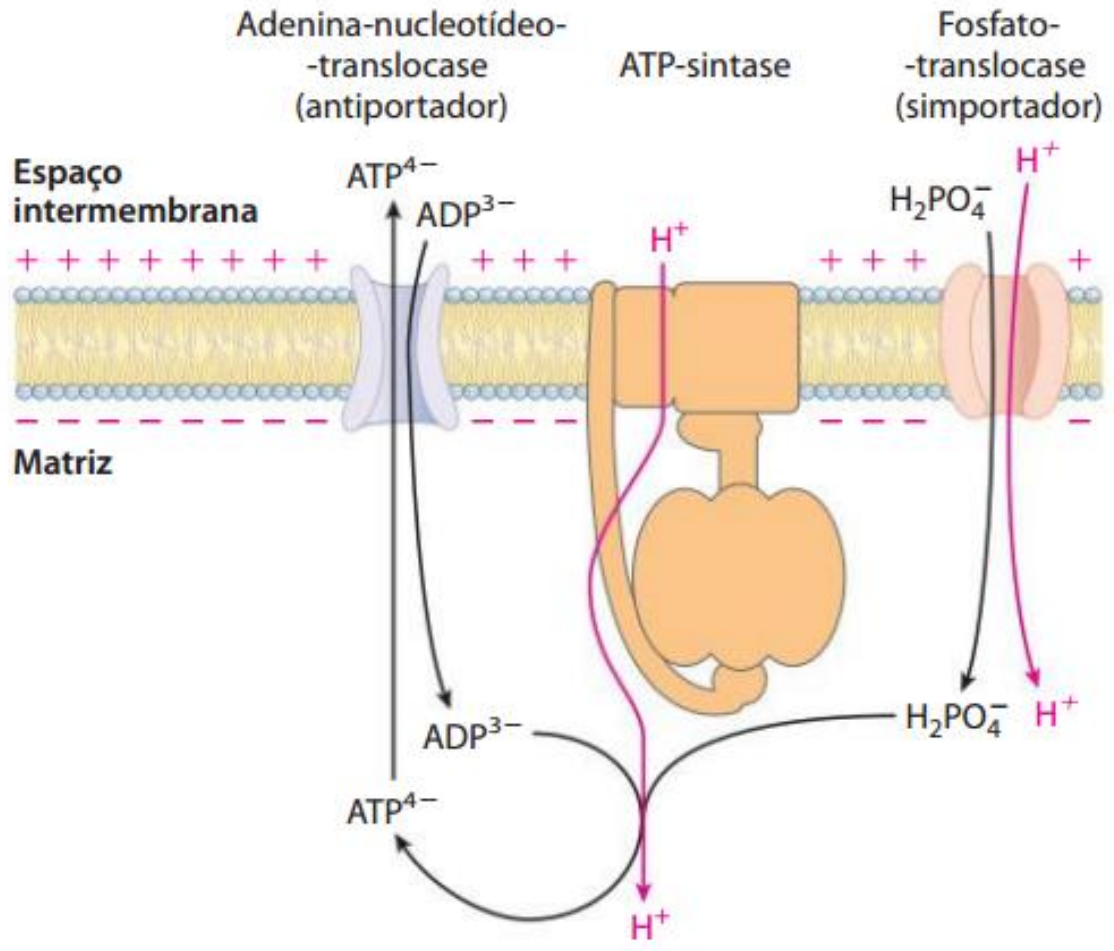
Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o DNP "já causou doenças graves e mortes em vários países nos últimos três anos".

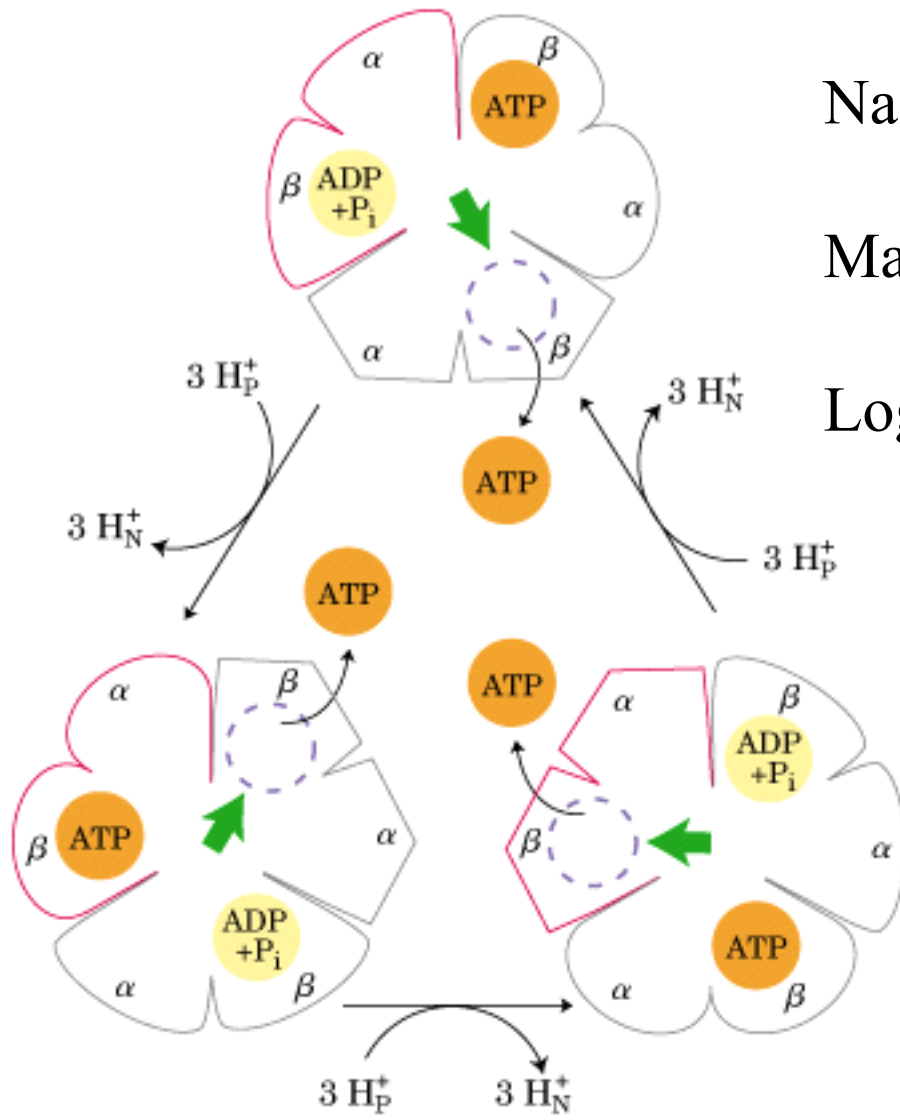


THINKSTOCK

Muitos consumiam o DNP na década de 30 para perder peso mas a substância foi proibida depois de ser considerada 'extremamente perigosa' (Foto: Thinkstock)

Como o ATP produzido na matriz mitocondrial chega ao citosol?





Na sintase, cada 3 H⁺ produz 1 ATP

Mas precisa 1 H⁺ para transportar Pi

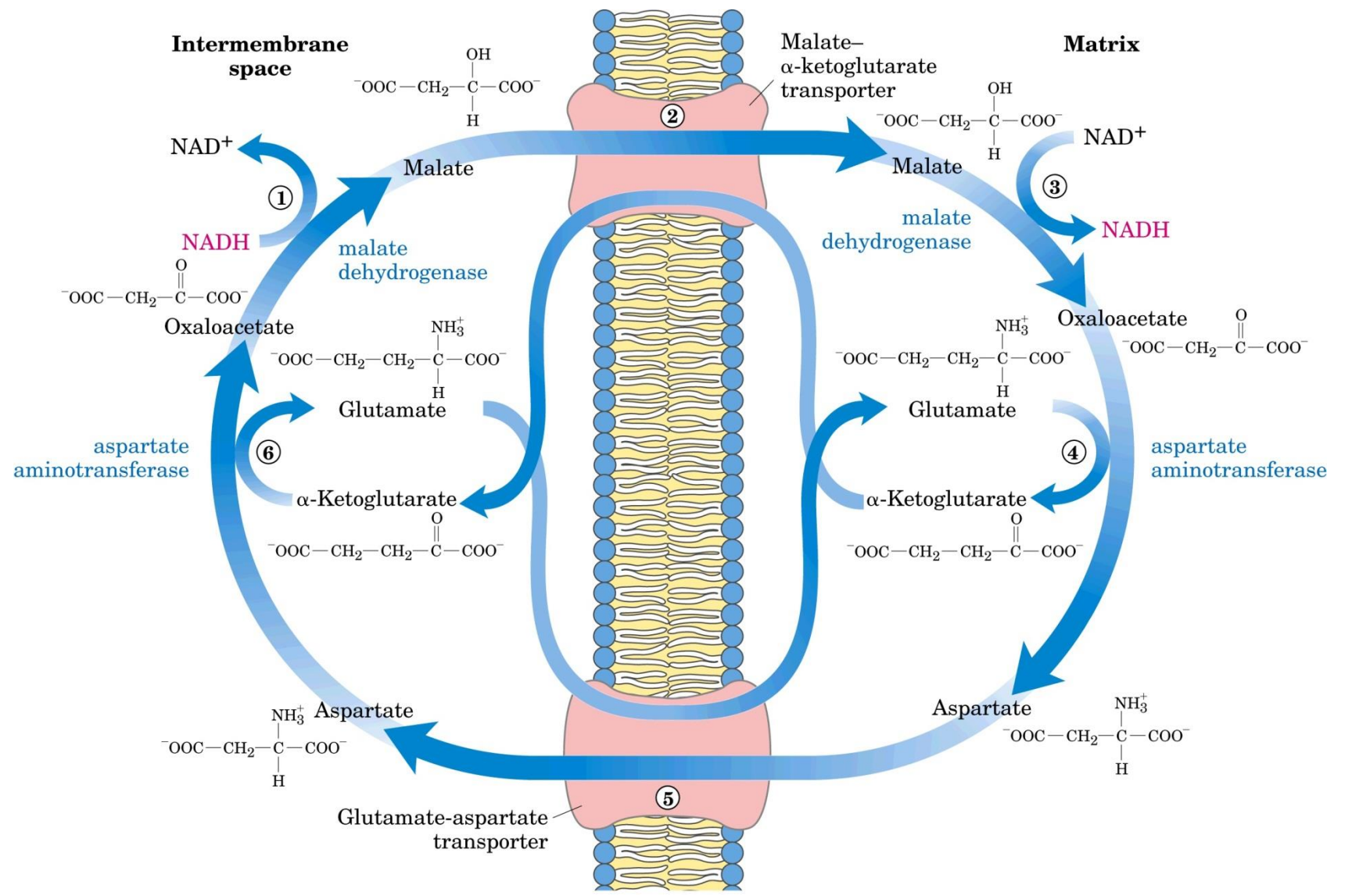
Logo , 4 H⁺/ATP

Logo: NADH desloca 10 H⁺ e produz 2,5 ATP

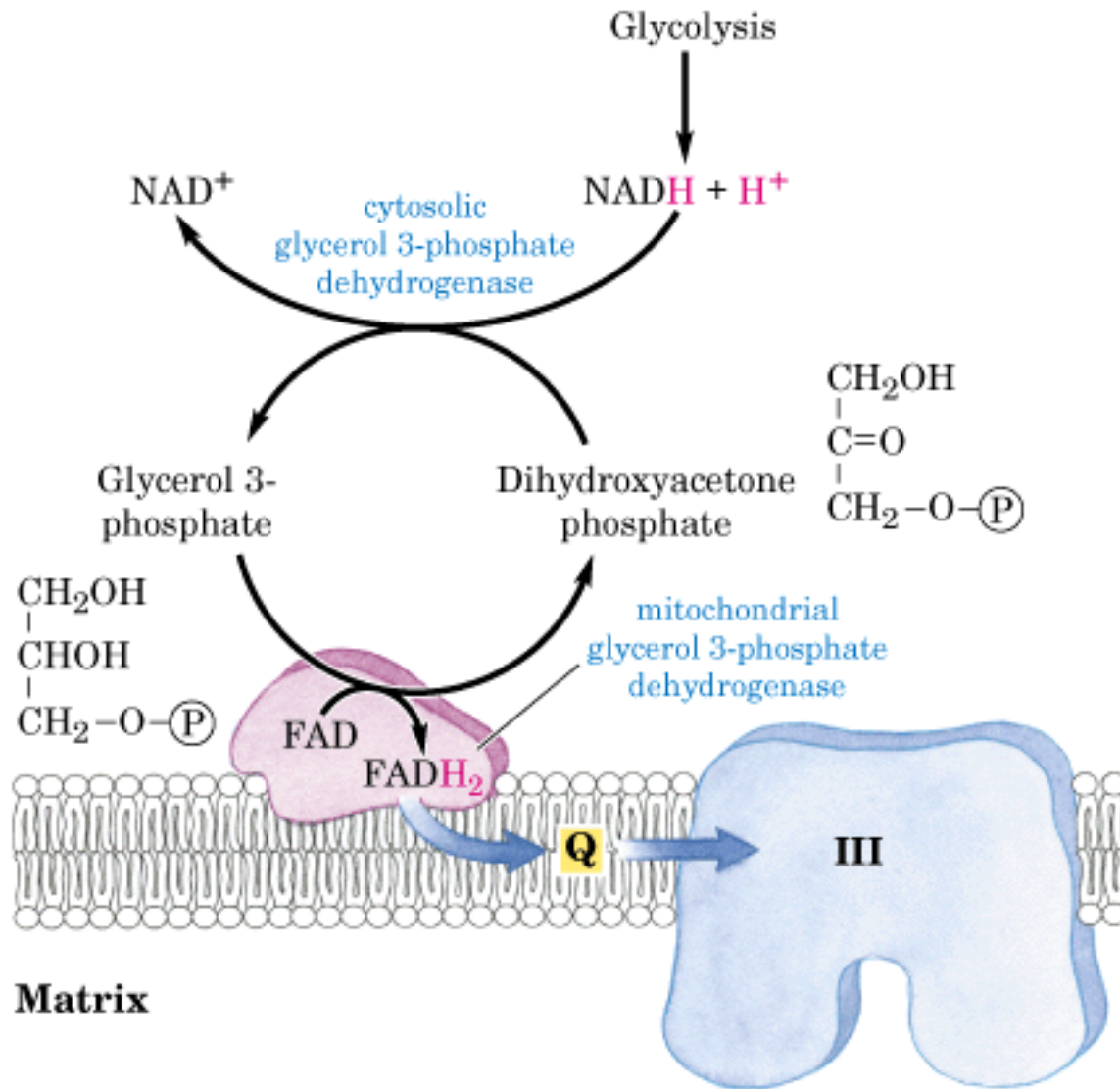
FADH₂ desloca 6 H⁺ e produz 1,5 ATP

E como o NADH produzido no citosol, via glicolítica, é oxidado na matriz mitocondrial?

Lançadeira malato-aspartato: transferência de NADH_{cit} para mitocôndria

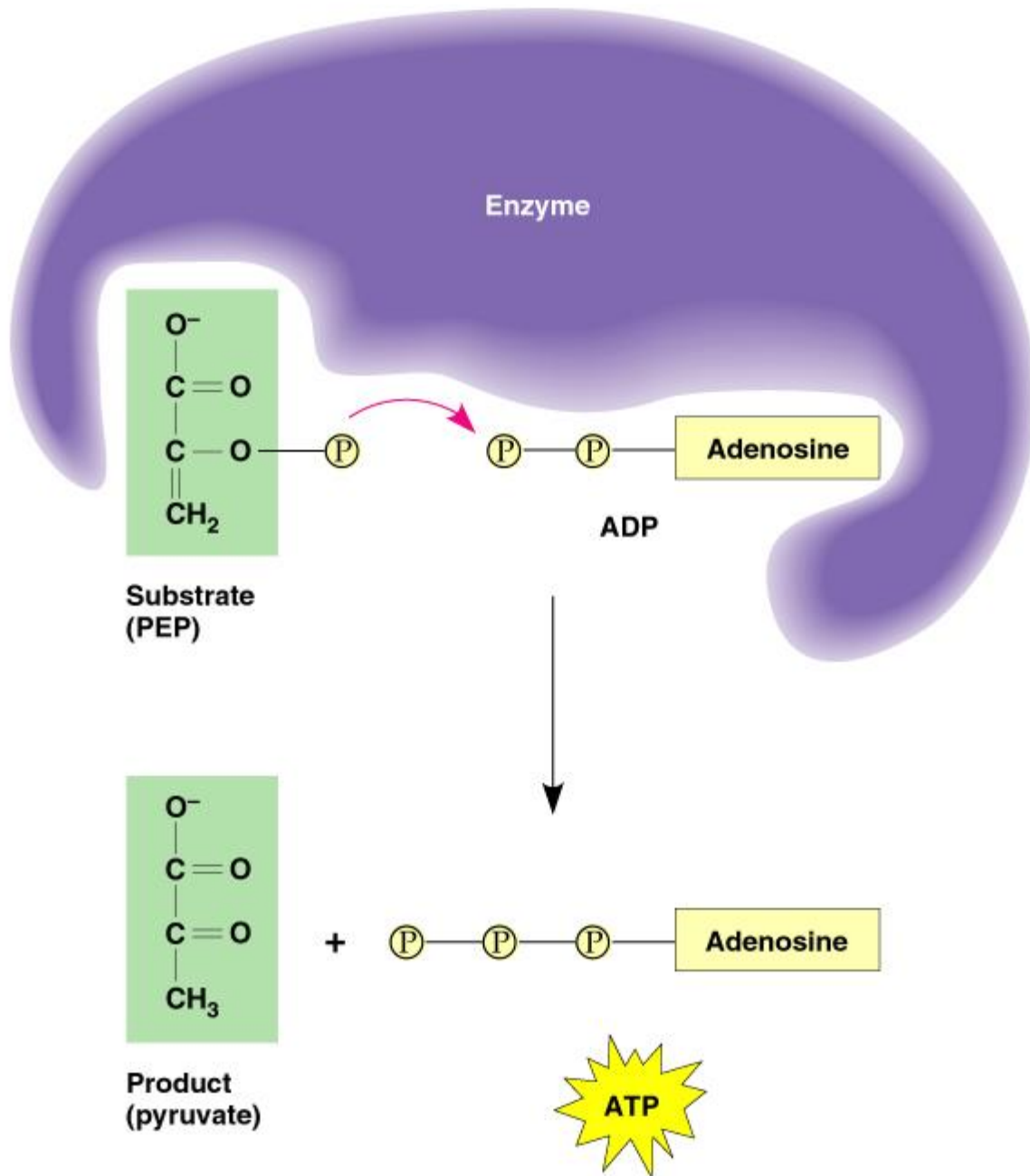


Lançadeira glicerol - fosfato



Respiração celular

- Glicólise
 - Glicose \rightarrow 2 piruvato
 - Reações redox liberam NADH
 - Citossol
- Ciclo de Krebs
 - Piruvato \rightarrow CO₂
 - Reações redox liberam NADH
 - Matriz mitocondrial
- Transporte de elétrons
 - Aceita elétrons (do NADH)
 - Gera ATP
 - Membrana interna



Fosforilação ao nível do substrato

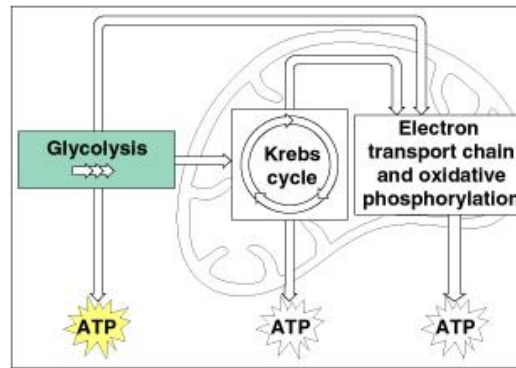
+

Fosforilação oxidativa

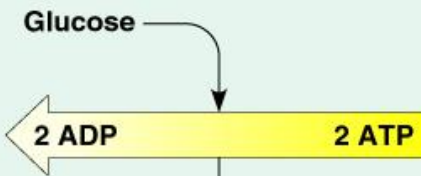


38 ATP

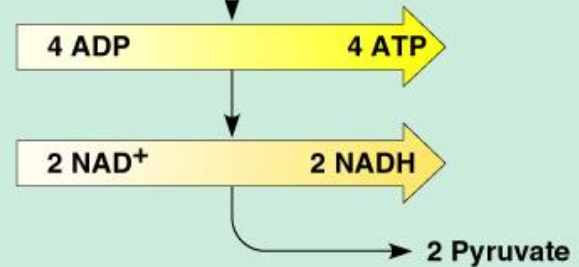
Glicólise



ENERGY-INVESTMENT PHASE



ENERGY-PAYOFF PHASE

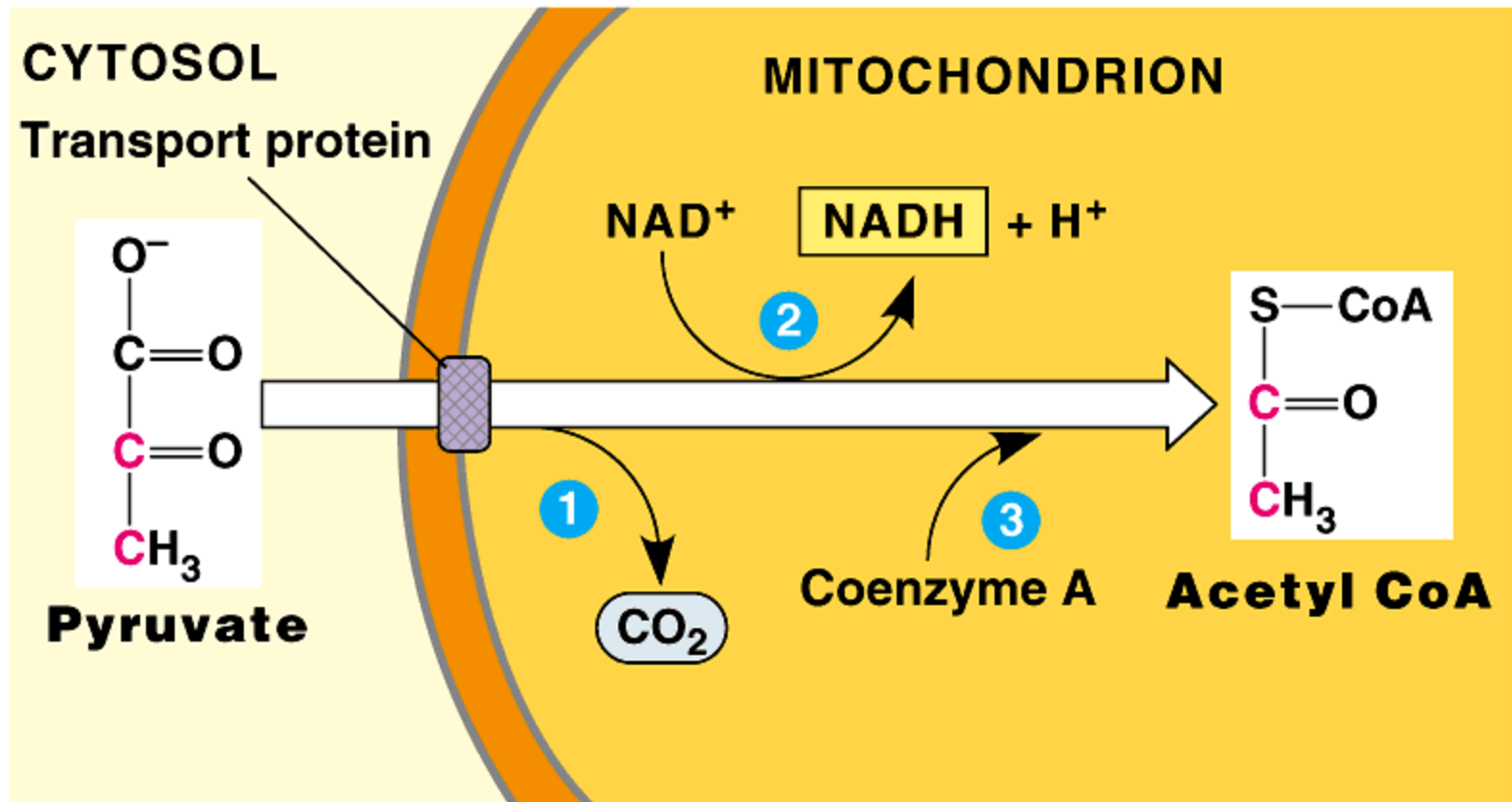


NET



Piruvato → acetil CoA

1. CO₂ liberado
2. Acetato formado (NAD⁺ → NADH)
3. Coenzima A ligada



Ciclo de Krebs

Acetil-CoA (2 Carbonos)



$2 \text{ CO}_2 + 3 \text{ NADH} + 1 \text{ FADH} + 1 \text{ ATP}$

2 Acetil-CoA por molécula de Glucose

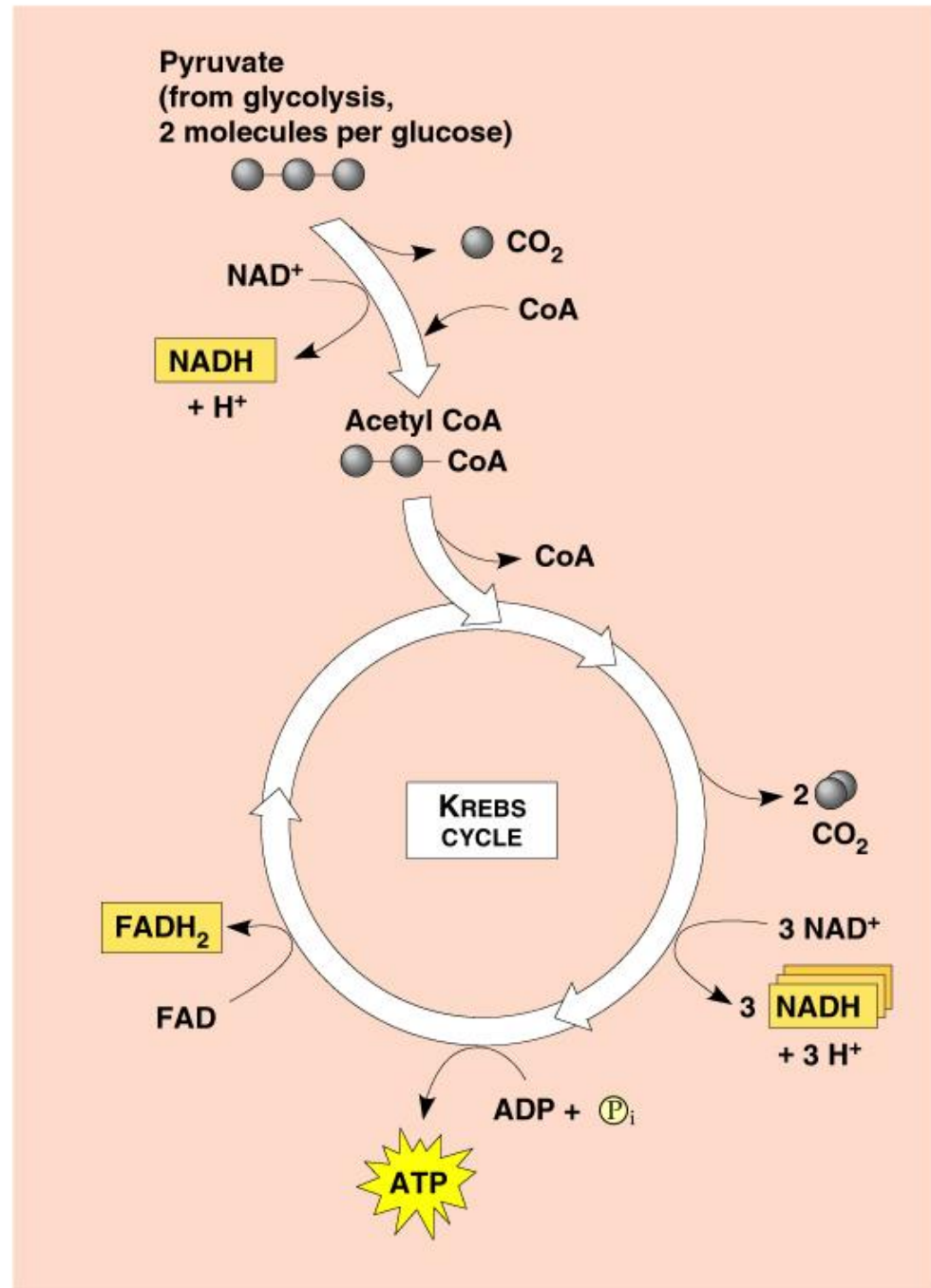


table 19–5**ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose**

Process	Direct product	Final ATP
Glycolysis	2 NADH (cytosolic) 2 ATP	3 or 5* 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) 2 FADH ₂ 2 ATP or 2 GTP	15 3 2
Total yield per glucose		30 or 32

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

Glicolise (2 ATP +2 NADH)

+

Acetyl CoA synthesis (2 NADH)

+

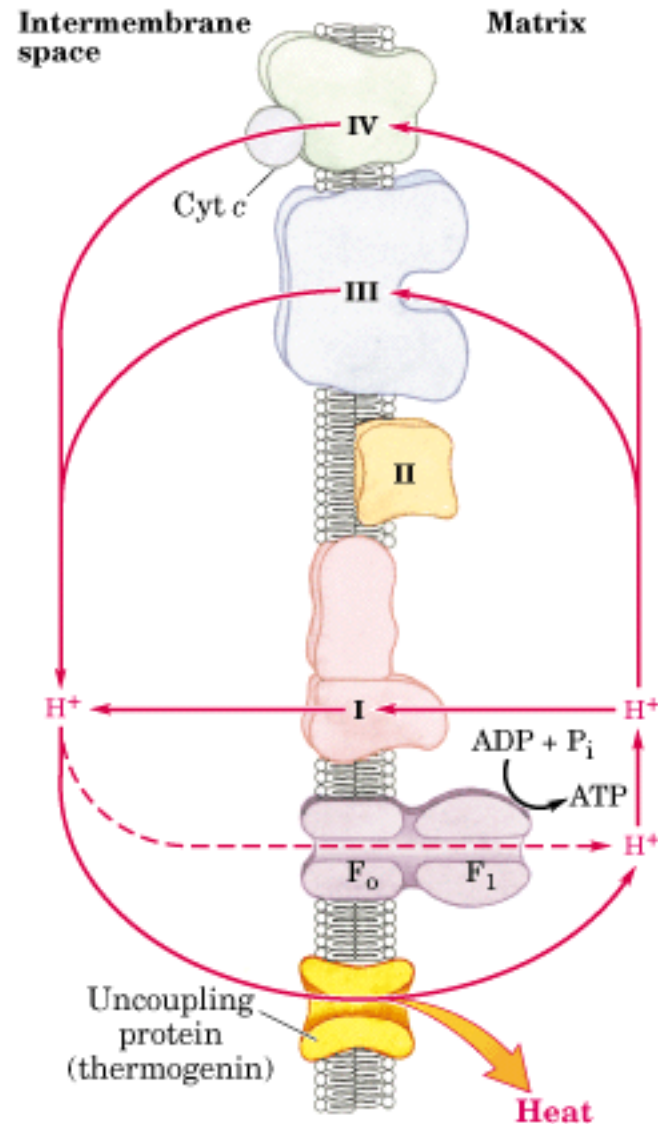
Ciclo de Krebs (1 ATP + 3 NADH + 1 FADH)

+

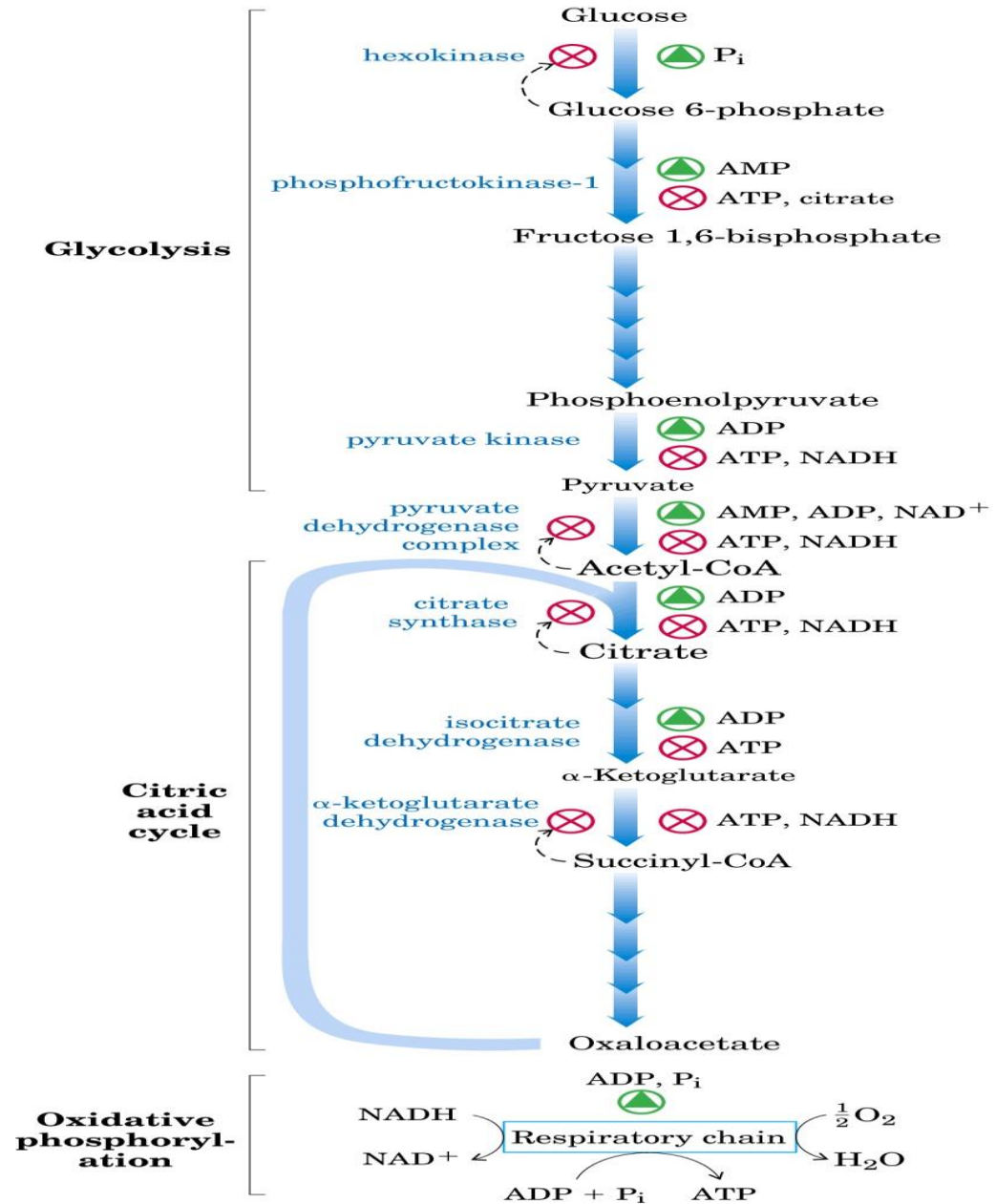
Ciclo de Krebs (1 ATP + 3 NADH + 1 FADH)

4 ATP + 10 NADH + 2 FADH

Desacoplamento de mitocôndria em tecido adiposo marrom de mamíferos recém-nascidos produz calor



Regulação das vias de produção de ATP

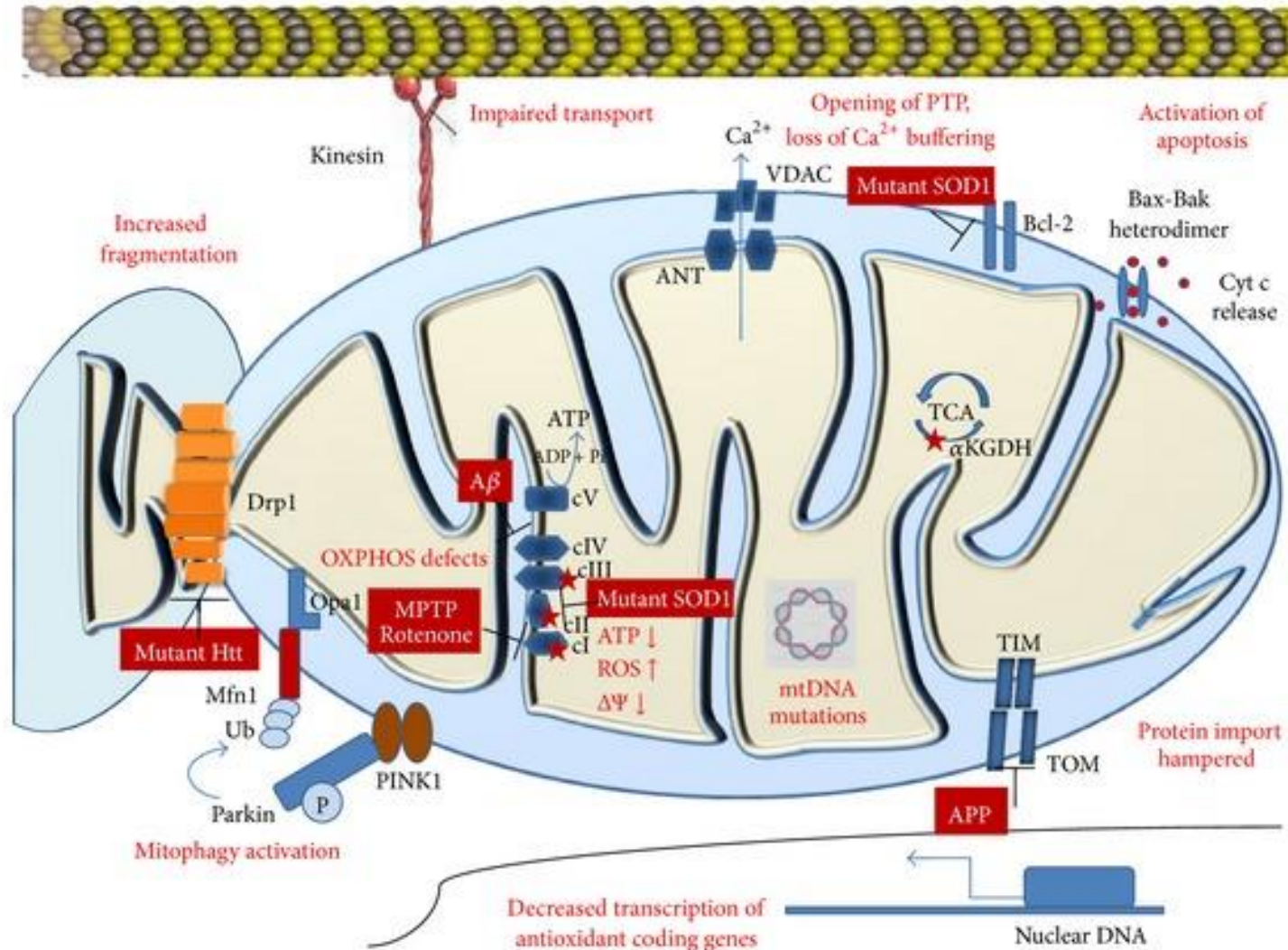


O que são mitocondriopatias?

São desordens ou doenças causadas pela disfunção das mitocôndrias, são também conhecidas por doenças mitocondriais, distúrbios de cadeia respiratória, distúrbios mitocondriais, dentre outros. Se as mitocôndrias não estão funcionando normalmente, qualquer órgão pode ser afetado, pois todos precisam de energia para o crescimento, funcionamento e manutenção.

Os sistemas de órgãos que são mais susceptíveis de serem afetados são normalmente aqueles que necessitam de uma grande quantidade de energia para funcionar, como o cérebro, coração e músculos esqueléticos. As mitocondriopatias caracterizam-se por ser um grupo de doenças com um amplo espectro de manifestações clínicas de sobreposição de diferentes sintomas. Algumas doenças mitocondriais afetam apenas um órgão, mas muitas outras afetam múltiplos órgãos.

Neurodegeneração e disfunção mitocondrial



Resumo

- Na Cadeia de Fosforilação Oxidativa, NADH, FADH₂, FAD e Succinato doam elétrons para complexos que bombeiam prótons para o espaço intermembranar.
- A força de gradiente quimiosmótico resultante acoplada à ATP sintase gera produção de ATP na mitocôndria.
- Certas drogas (venenos) podem desacoplar o consumo de O₂ e o decorrer da cascata de elétrons da produção de ATP.
- A lançadeira Malato-Aspartato é responsável por transportar NADH para a mitocôndria.