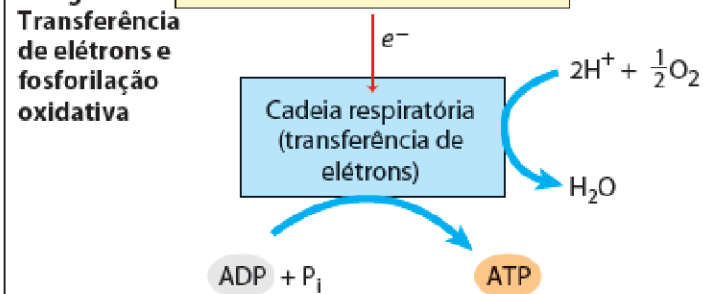
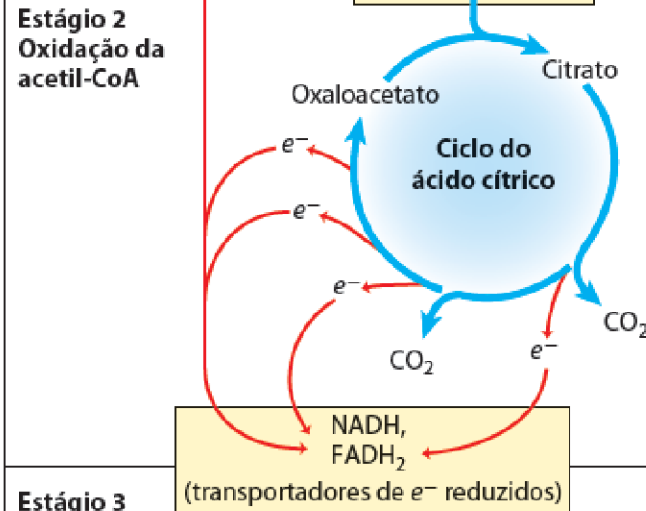
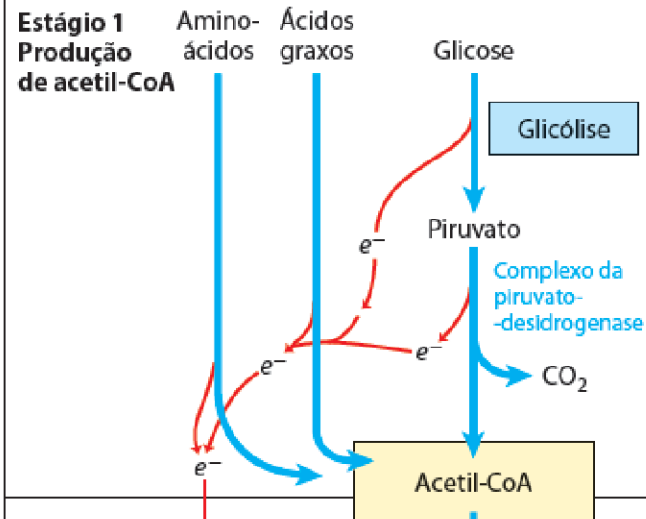


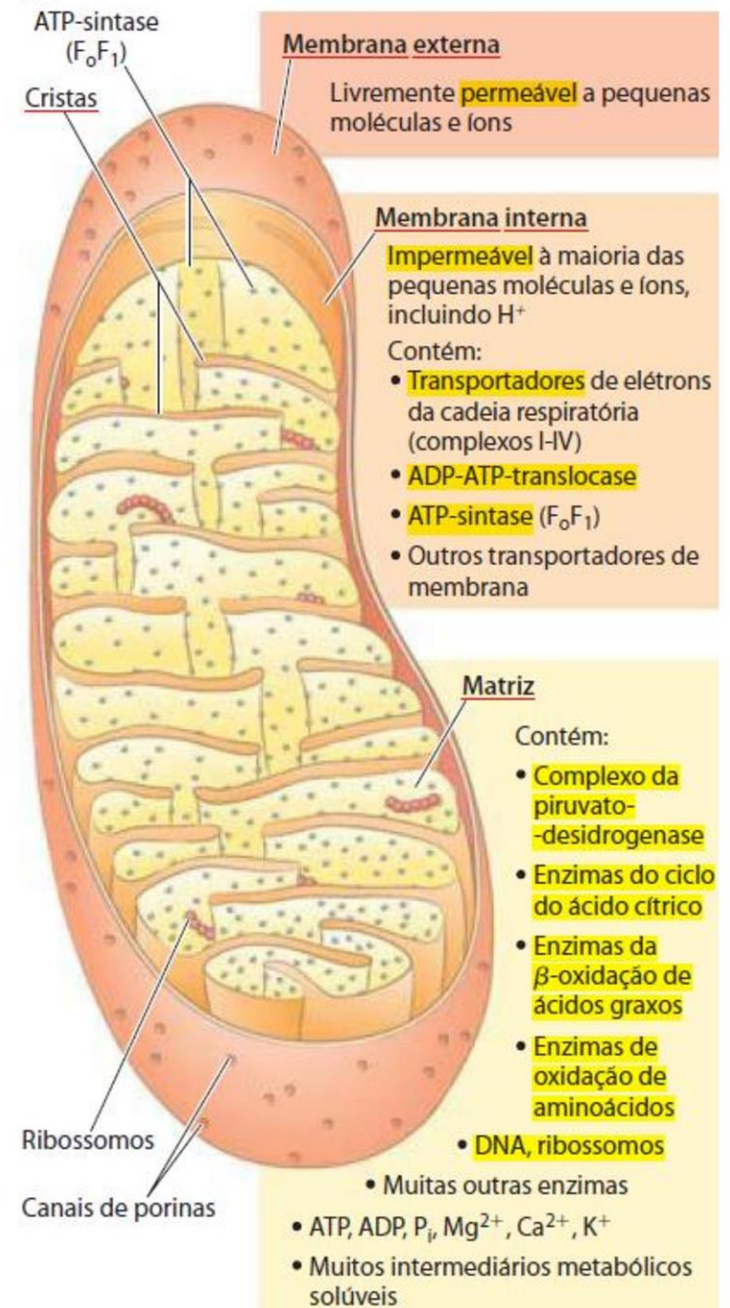
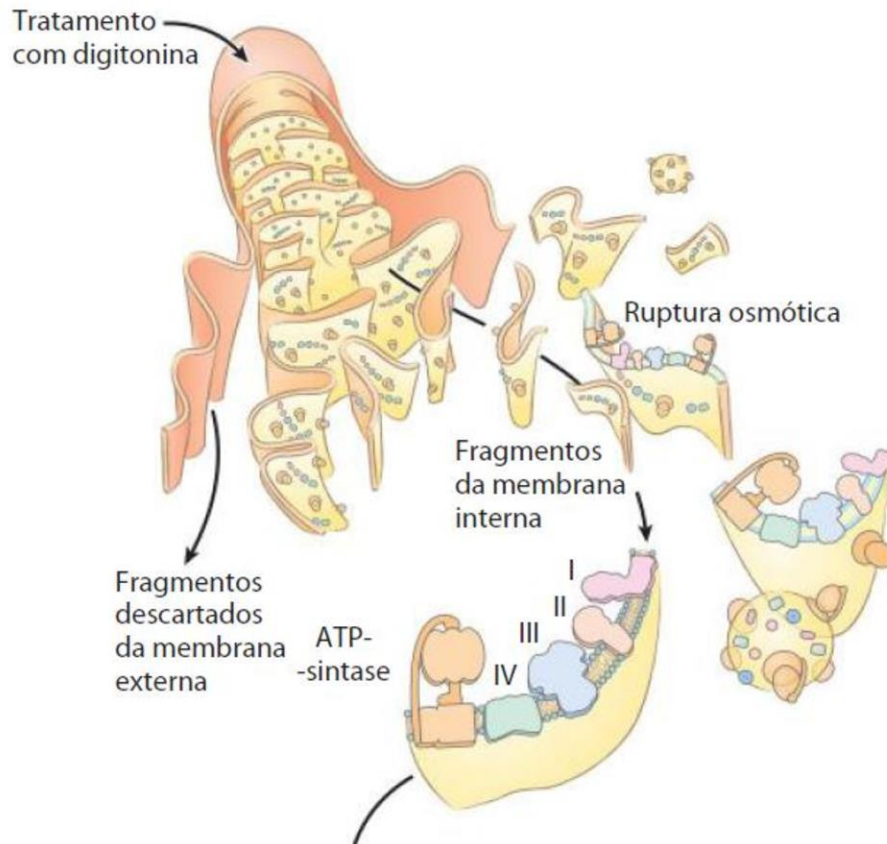


# Cadeia Respiratória e Fosforilação oxidativa

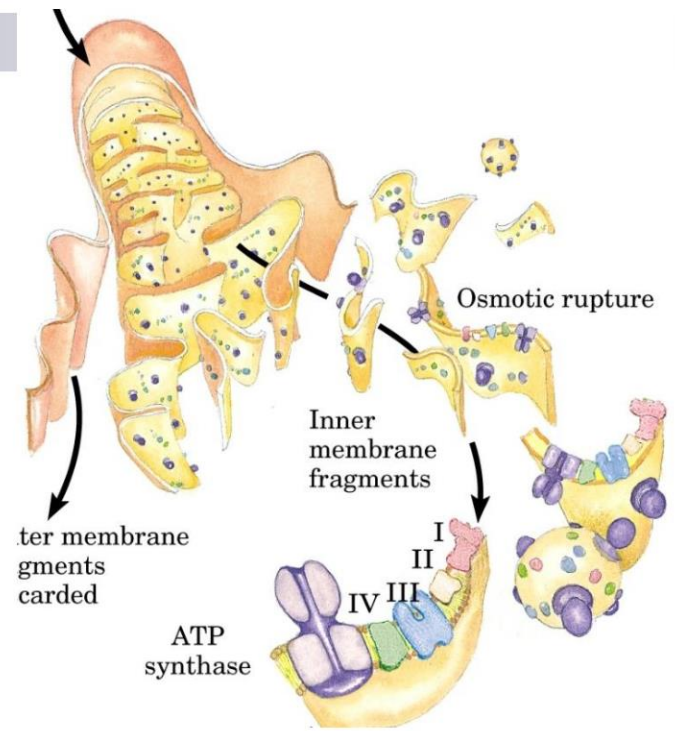
**Prof. Daniela Ramos Truzzi**  
dtruzzi@iq.usp.br



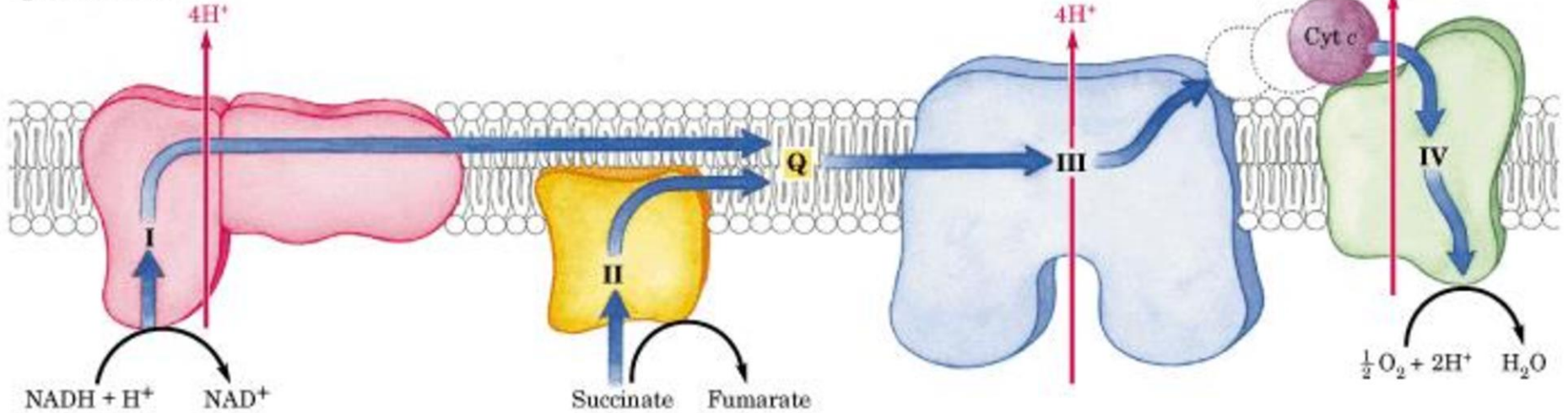
# Onde acontece a cadeia respiratória?



# Os complexos da cadeia respiratória



Intermembrane space (P side)

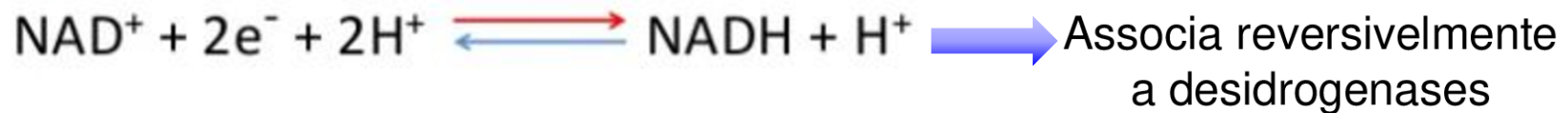




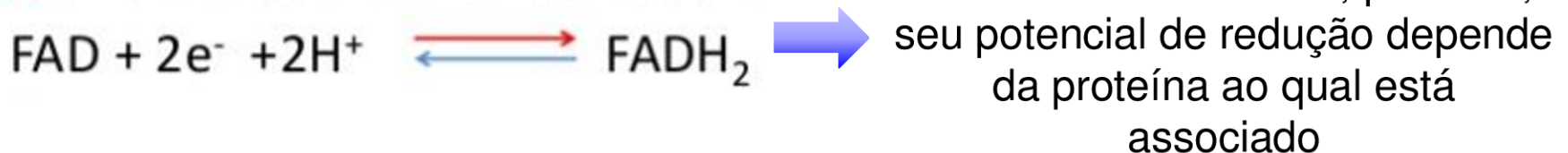
# Aceptores Universais de elétrons

- ✓ A fosforilação oxidativa começa com a entrada de  $e^-$  na cadeia transportadora de  $e^-$ /cadeia respiratória.
- ✓ A maioria dos  $e^-$  surge da ação das **desidrogenases**, que coletam  $e^-$  das vias catabólicas e os canalizam para os **ceptores universais de  $e^-$** :

**NAD<sup>+</sup>**: Nicotinamida adenina dinucleotídio



**FAD**: Flavina-adenina dinucleotídio



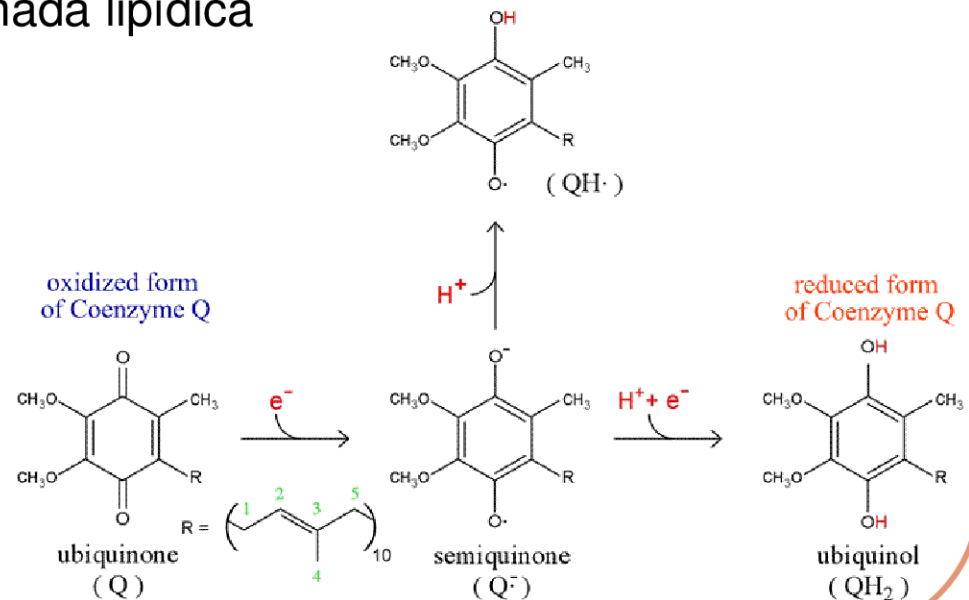
# Carregadores de elétrons da cadeia respiratória

✓ Ocorrem 3 tipos de transferência de elétrons:

- 1 – direta de elétrons (ex:  $\text{Fe}^{3+} + 1\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ )
- 2 – na forma de hidrogênio (H)
- 3 – na forma de íon hidreto ( $\text{H}^-$ )

✓ 3 tipos de moléculas carregadoras

1 – **ubiquinona** : solúvel na bicamada lipídica (móvel), carrega  $\text{e}^-$  e  $\text{H}^+$

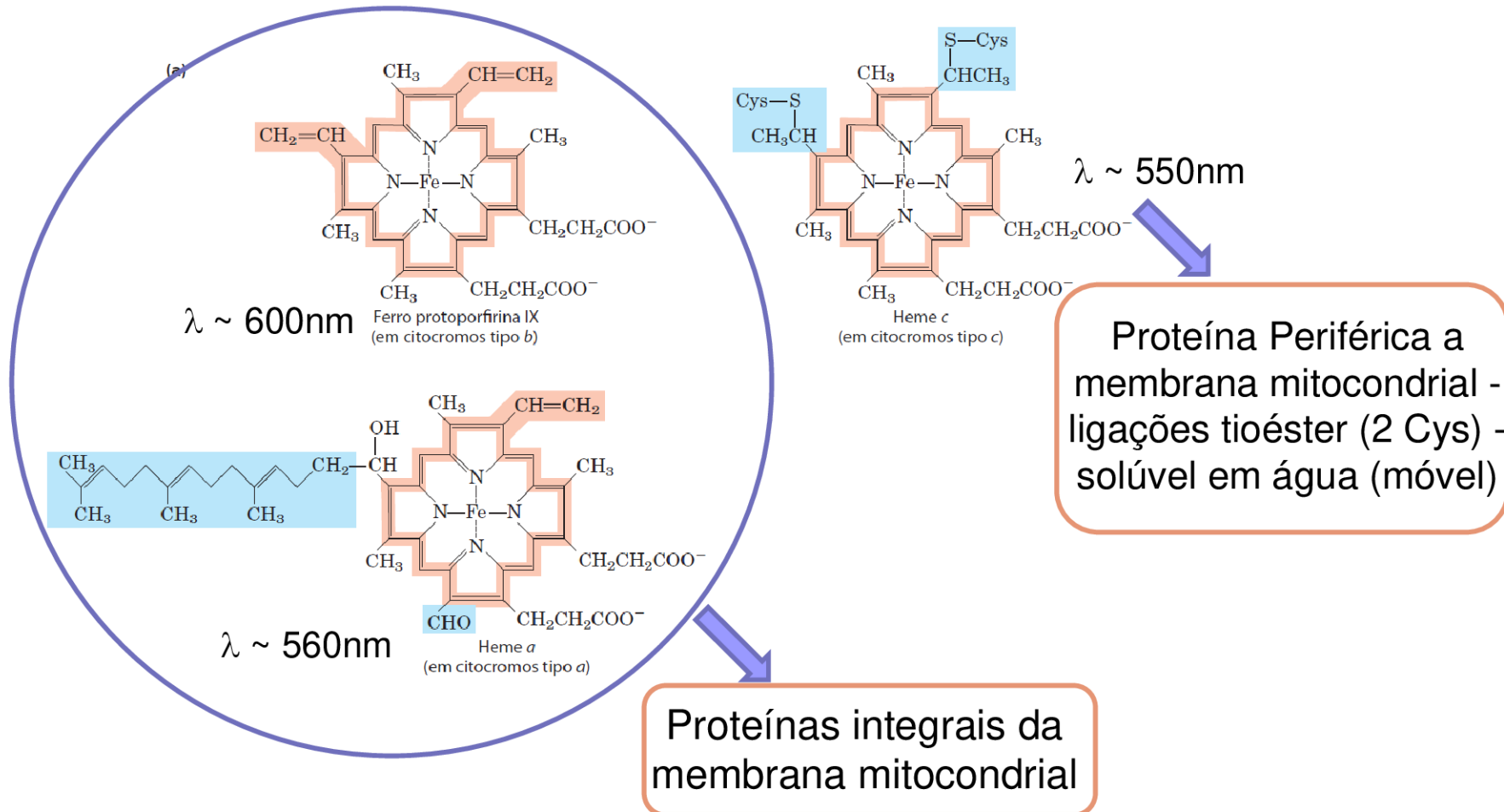


# Carregadores de elétrons da cadeia respiratória

## ✓ 3 tipos de moléculas carregadoras

1 – ubiquinona: solúvel na bicamada lipídica, carrega  $e^-$  e  $H^+$

2 – **citocromos** → Mitochondrias tem 3 classes (*a*, *b* e *c*)

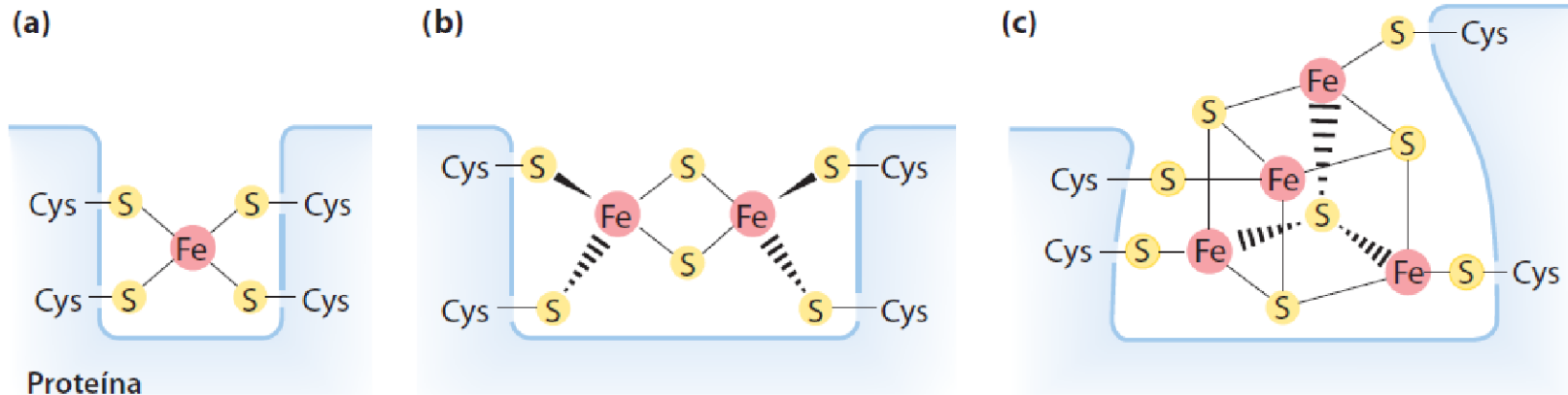




# Carregadores de elétrons da cadeia respiratória

## ✓ 3 tipos de moléculas carregadoras

- 1 – ubiquinona: solúvel na bicamada lipídica, carrega  $e^-$  e  $H^+$
- 2 – citocromos
- 3 – **clusters ferro-enxofre**



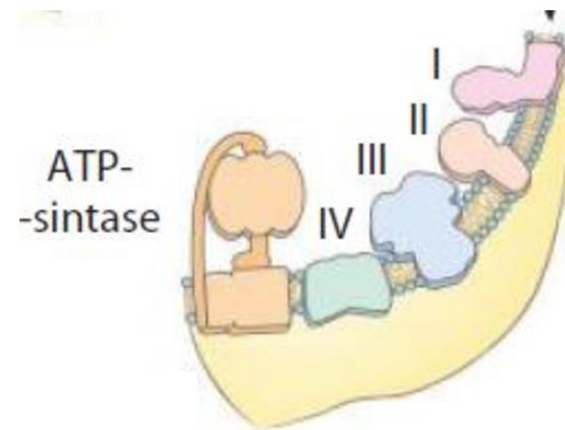
- ✓ Há pelo menos 8 proteínas com cluster Fe-S na cadeia respiratória
- ✓ O potencial de redução do cluster Fe-S varia dependendo do microambiente em que está inserido (-0.65 a +0.45)

# O que ordena (organiza) a cadeia respiratória?

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

Reação redox (meia-reação)	$E^{\circ}$ (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
$\text{NADH-desidrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH-desidrogenase (FMNH}_2\text{)}$	-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

# Os carregadores de elétrons são organizados em complexos multienzimáticos

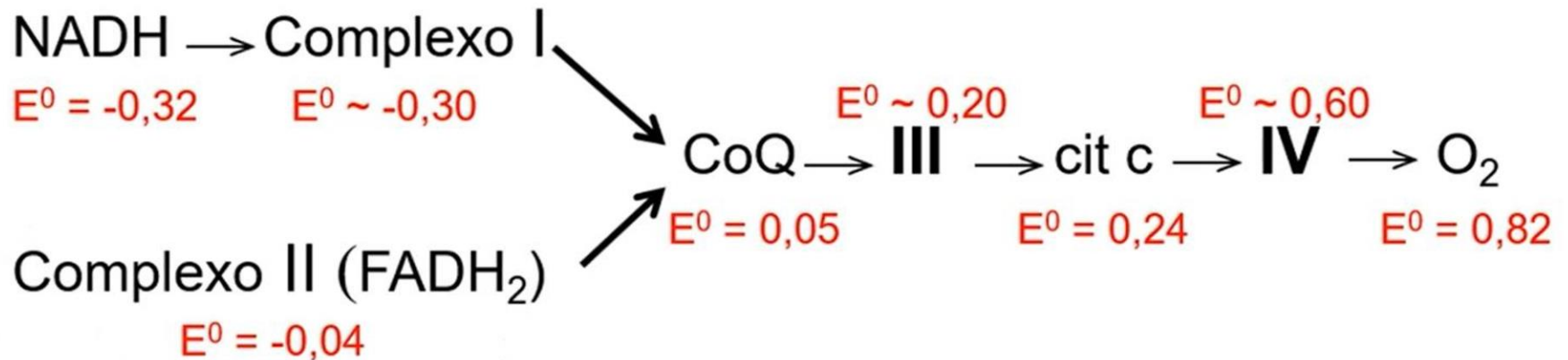


**TABELA 19-3** Os componentes proteicos da cadeia mi

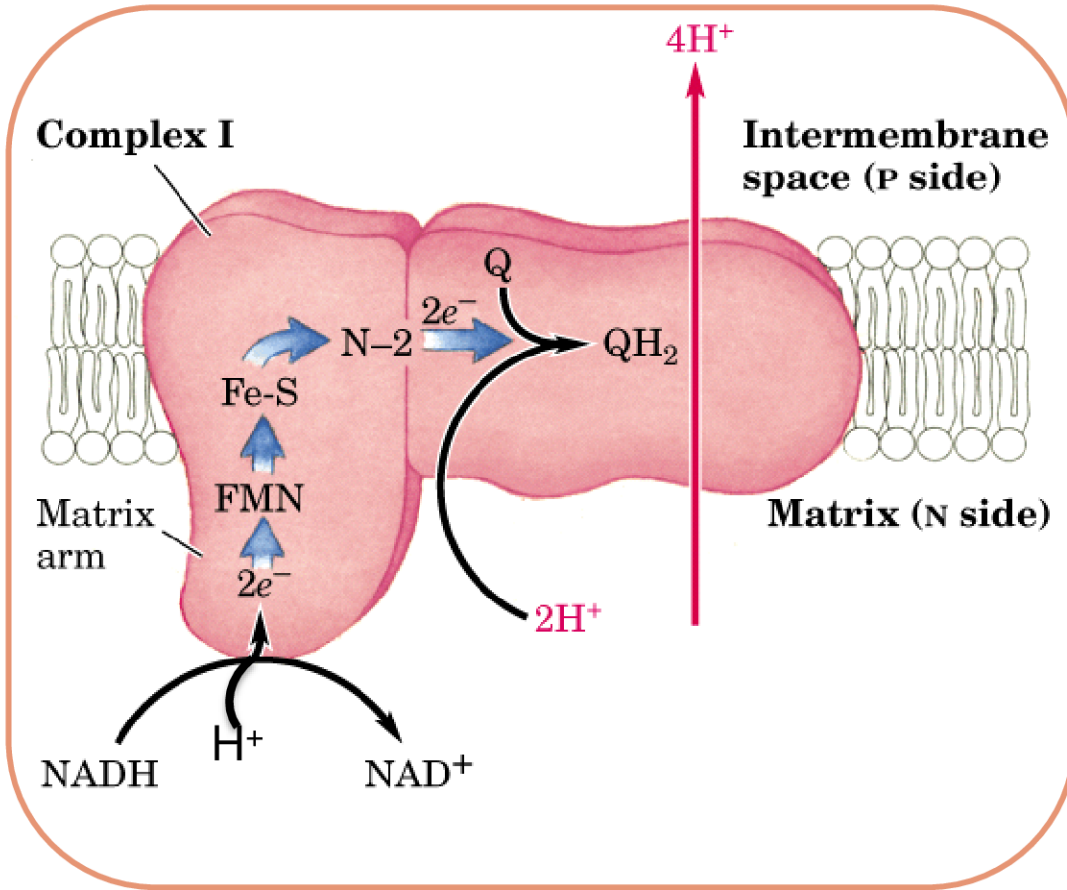
Proteína/complexo enzimático	Grupo(s) prostético(s)
I NADH-desidrogenase	FMN, Fe-S
II Succinato-desidrogenase	FAD, Fe-S
III Ubiquinona: citocromo <i>c</i> -oxidorreductase	Hemes, Fe-S
Citocromo <i>c</i> <sup>†</sup>	Heme
IV Citocromo-oxidase	Hemes; Cu <sub>A</sub> , Cu <sub>B</sub>

# Cadeia de Transporte de Elétron

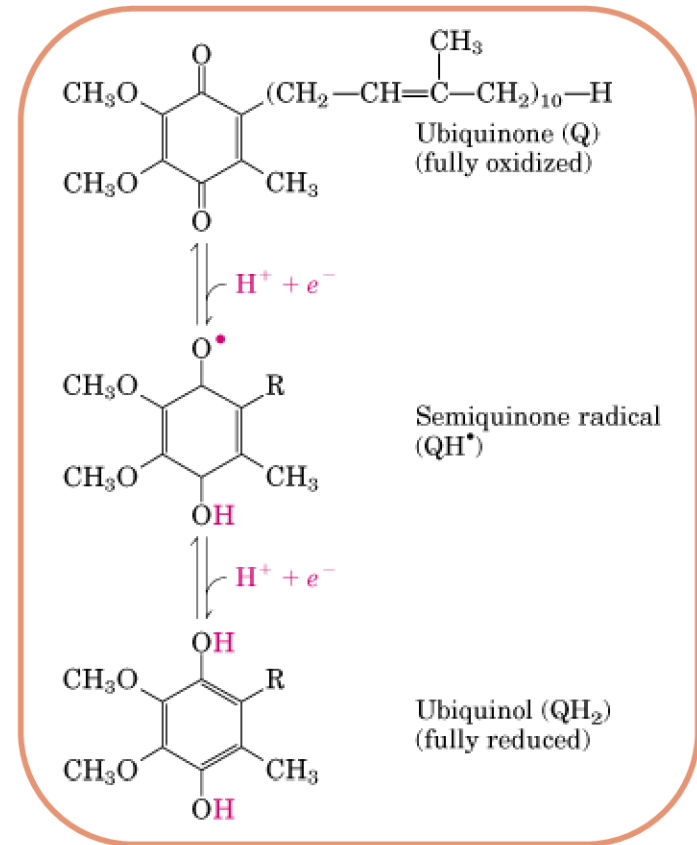
- $\text{NADH} \rightarrow \text{O}_2$
- Seqüência de reações de óxido-redução
- Componentes da membrana mitocondrial interna



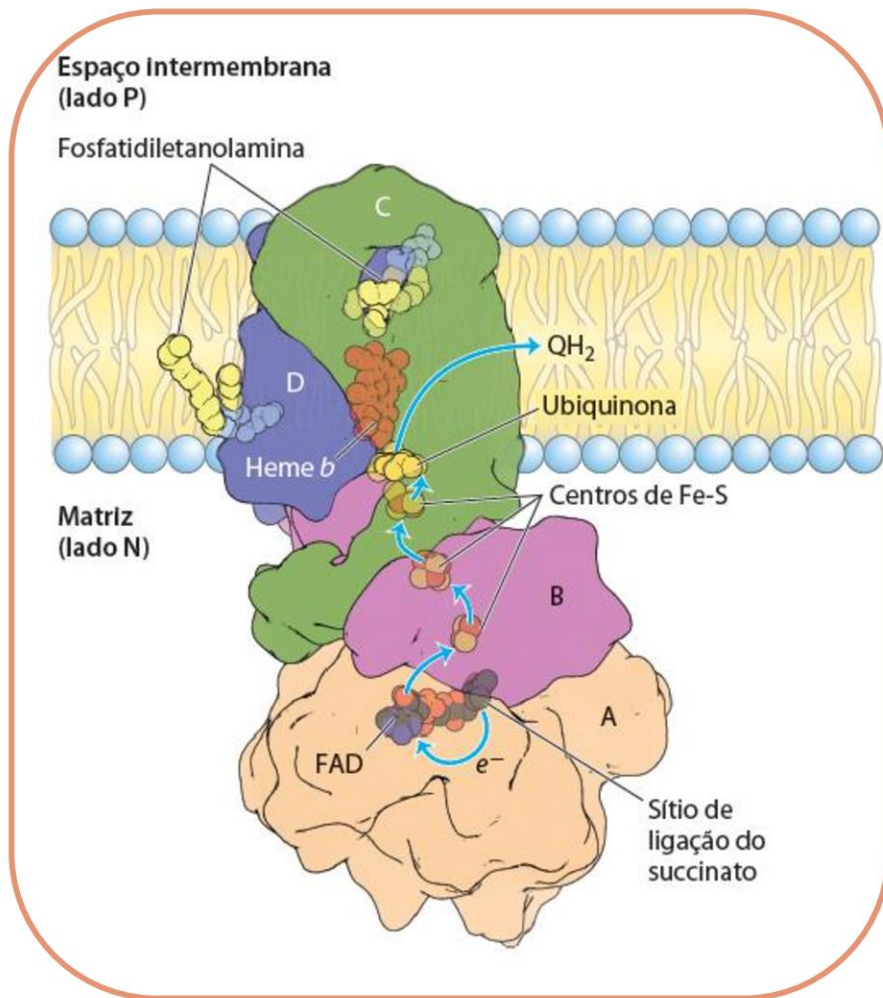
# Complexo I (NADH:ubiquinona oxirredutase): NADH à ubiquinona



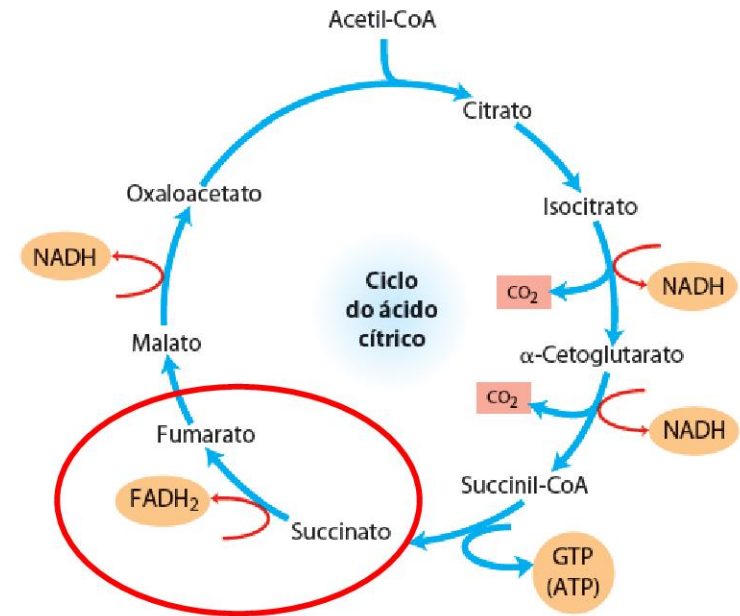
✓ 6 centros Fe-S



# Complexo II (succinato desidrogenase): succinato à ubiquinona

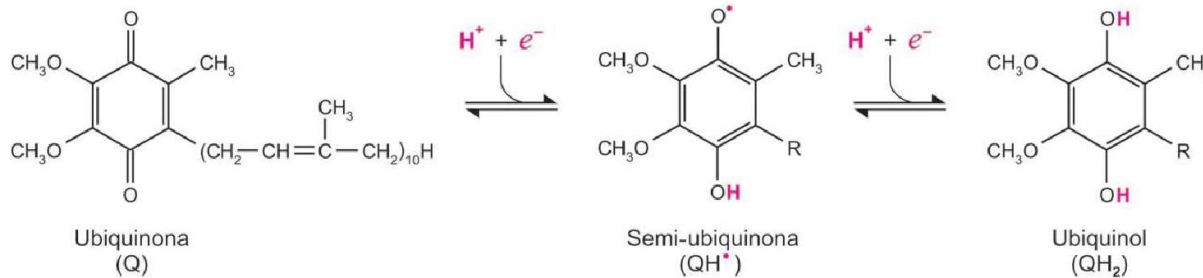


- ✓ 3 centros Fe-S

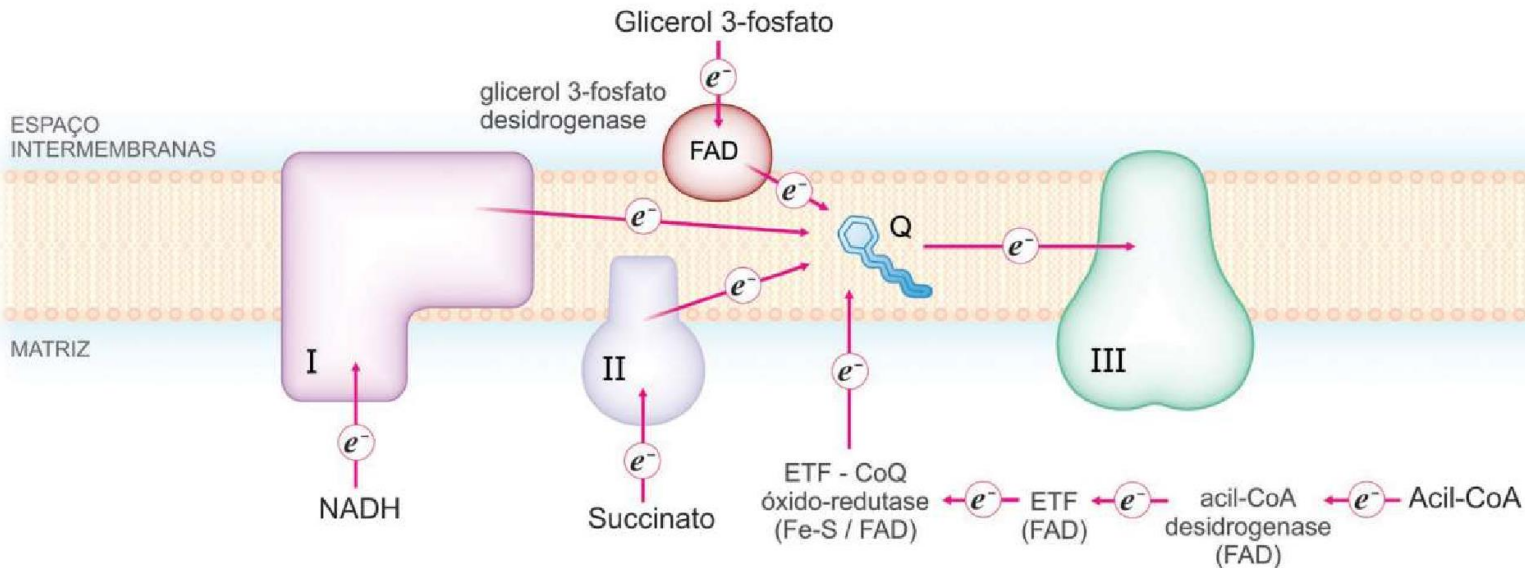


- ✓ Via de transferência de elétrons: Succinato → FADH<sub>2</sub> → Fe-S → Q
- ✓ Contém grupo heme (heme b) → não participa da via direta de transferência de elétrons, mas evita o vazamento de elétrons para o O<sub>2</sub>

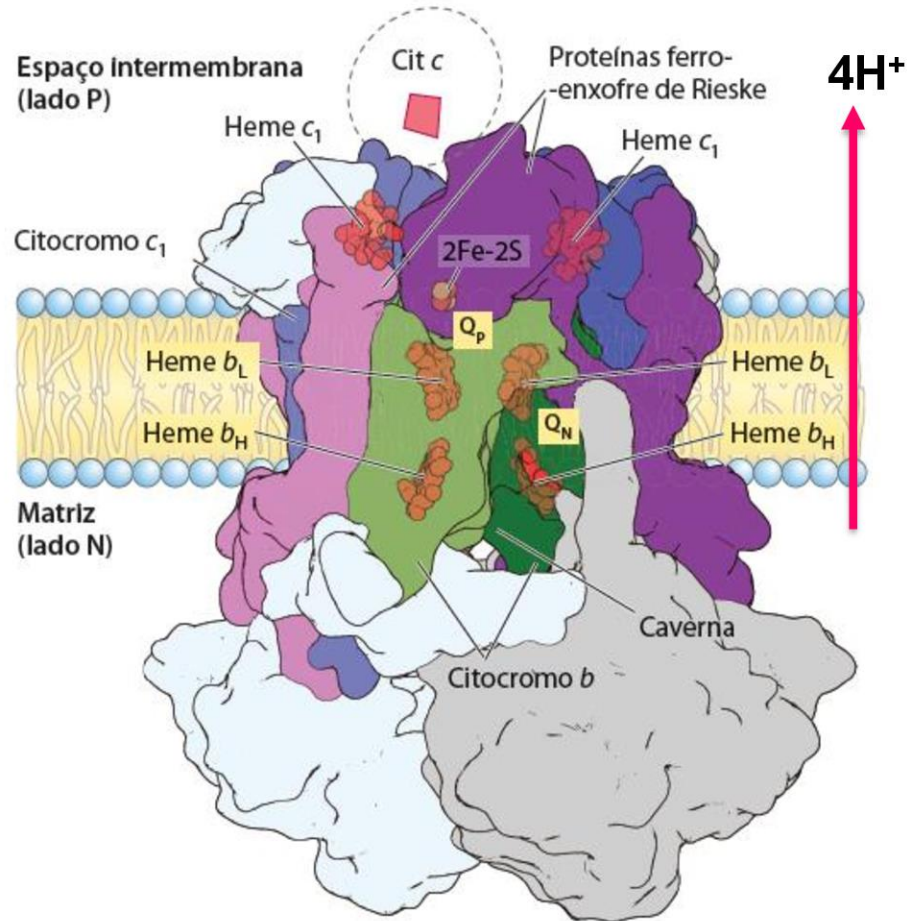
# A coenzima Q é o ponto de convergência de $e^-$



Além da succinato desidrogenase, outras enzimas também repassam  $e^-$  de seus FADH para a coenzima Q

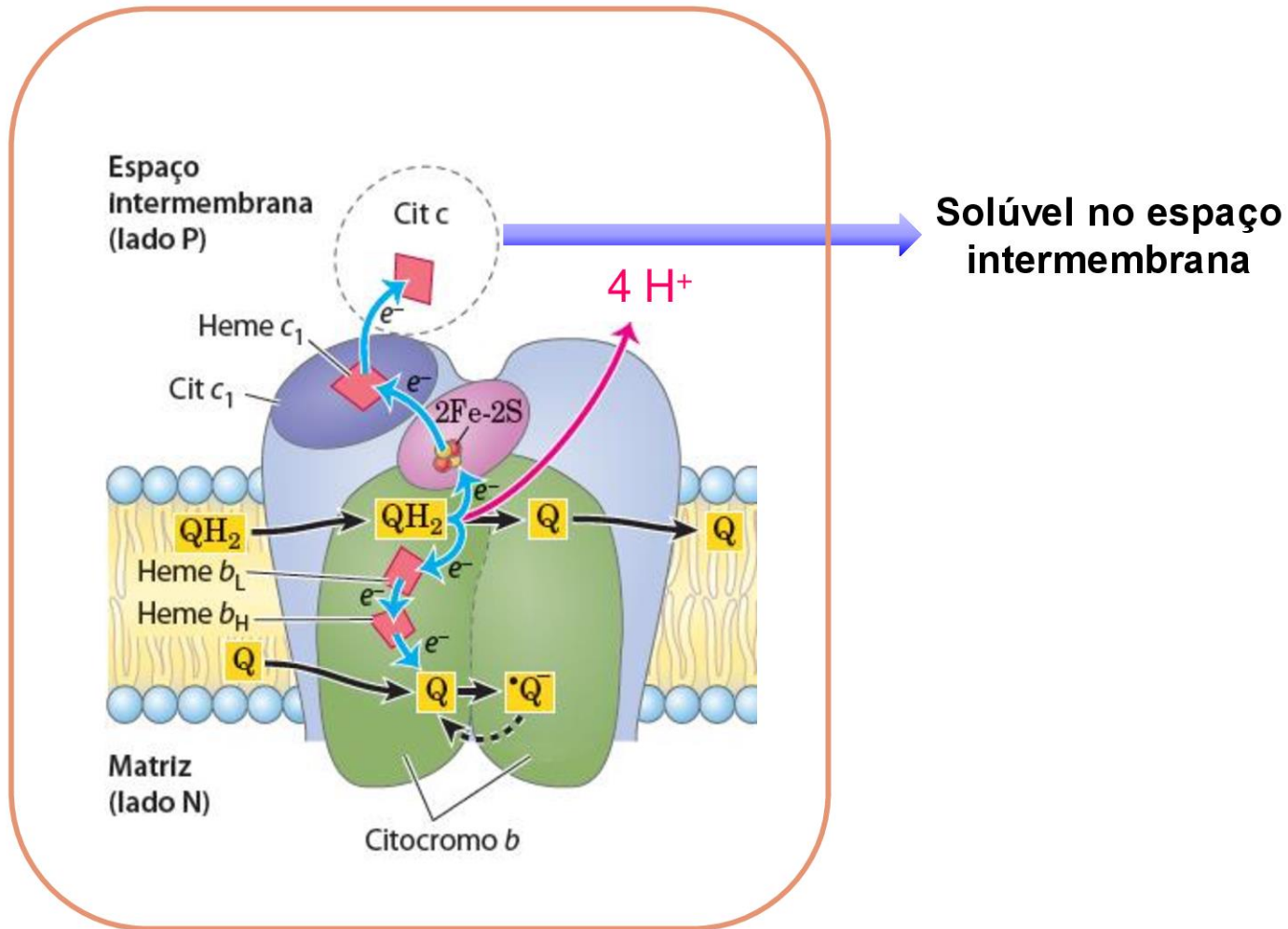


# Complexo III (ubiquinona:citocromo c oxirredutase): ubiquinona ao citocromo c

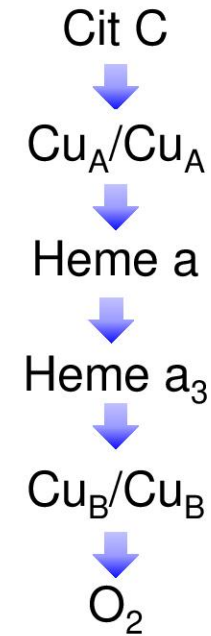
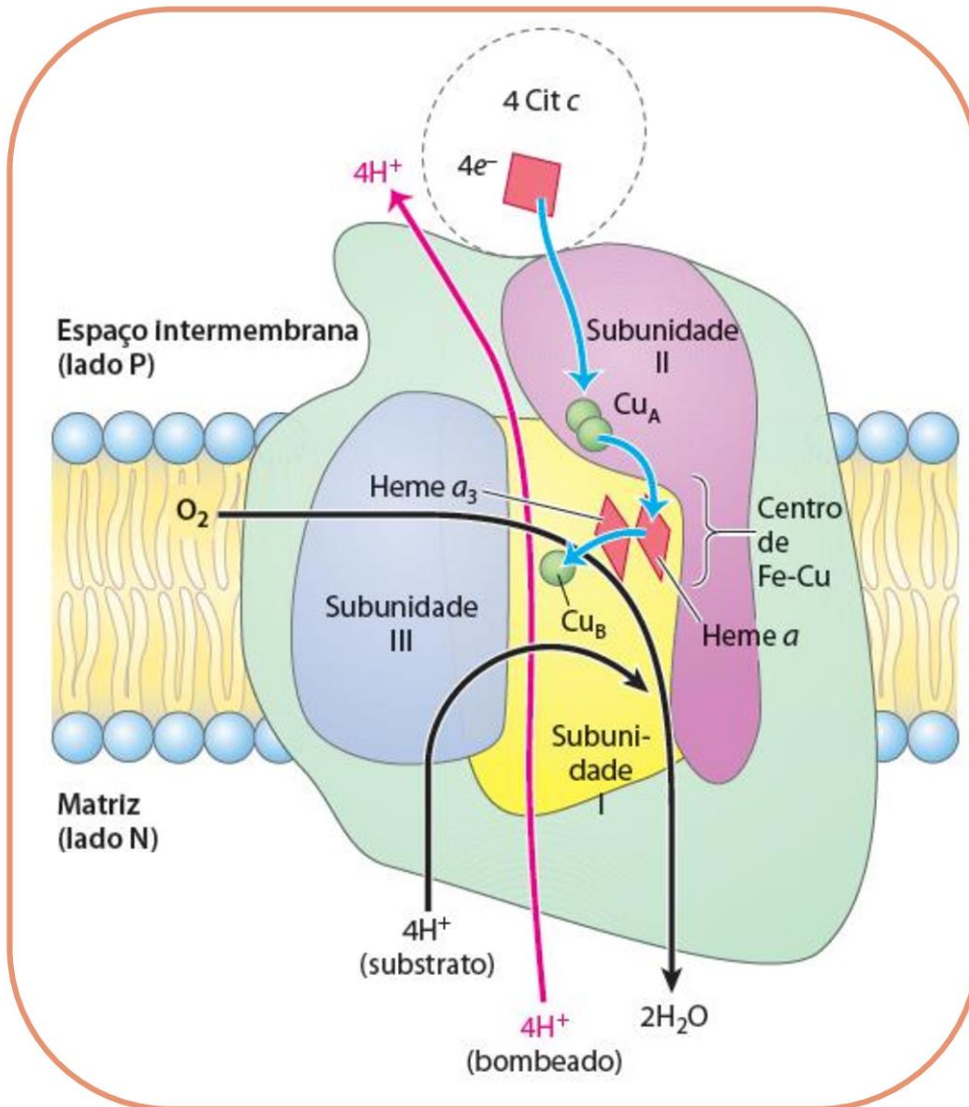




# Complexo III (ubiquinona:citocromo c oxirredutase): ubiquinona ao citocromo c

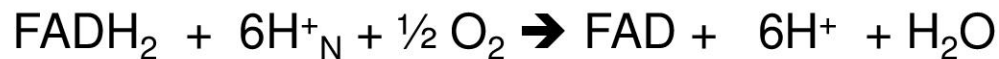
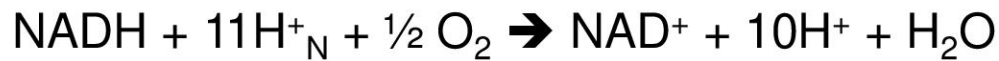
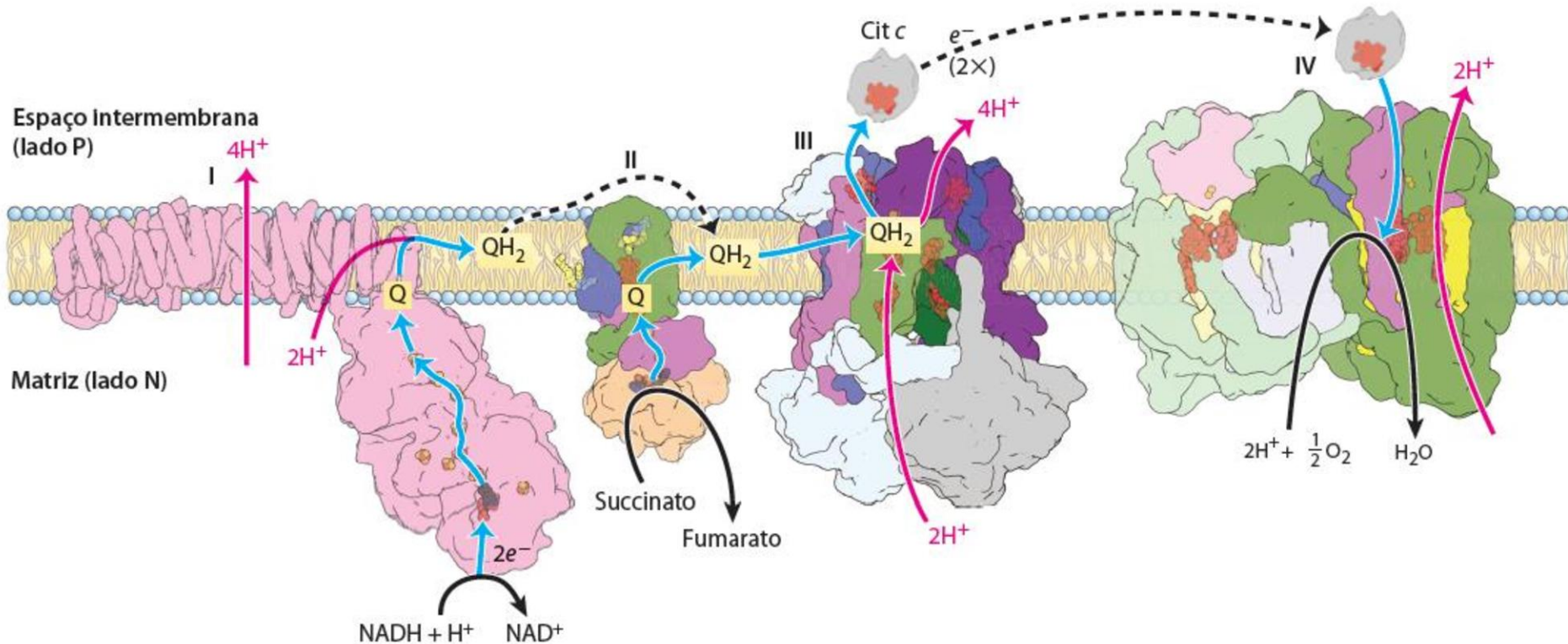


# Complexo IV (citocromo oxidase): citocromo c ao $O_2$



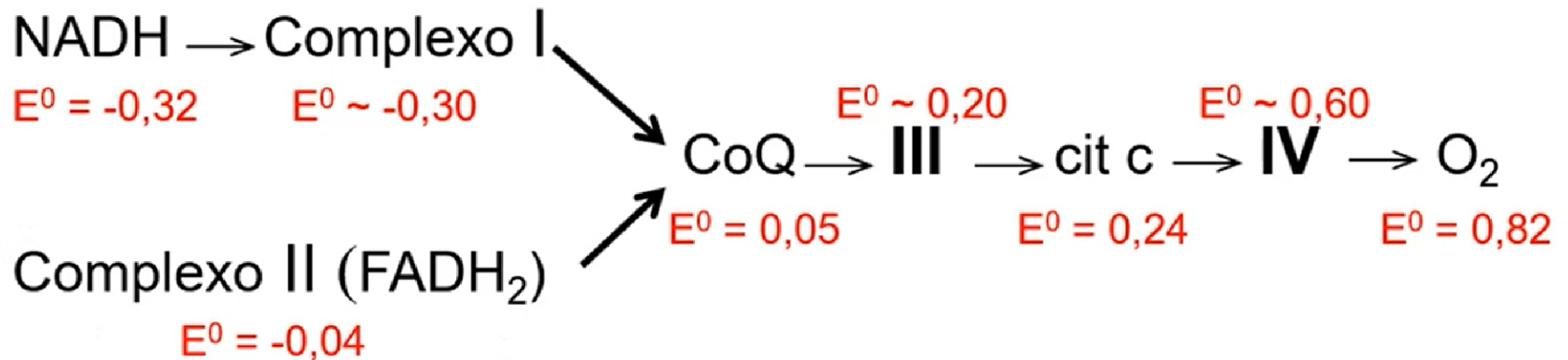
- ✓ Redução do  $O_2$  por  $4e^-$  ocorre em passos de  $1e^-$
- ✓ Intermediários fortemente ligados ao complexo

# Resumo do fluxo dos elétrons

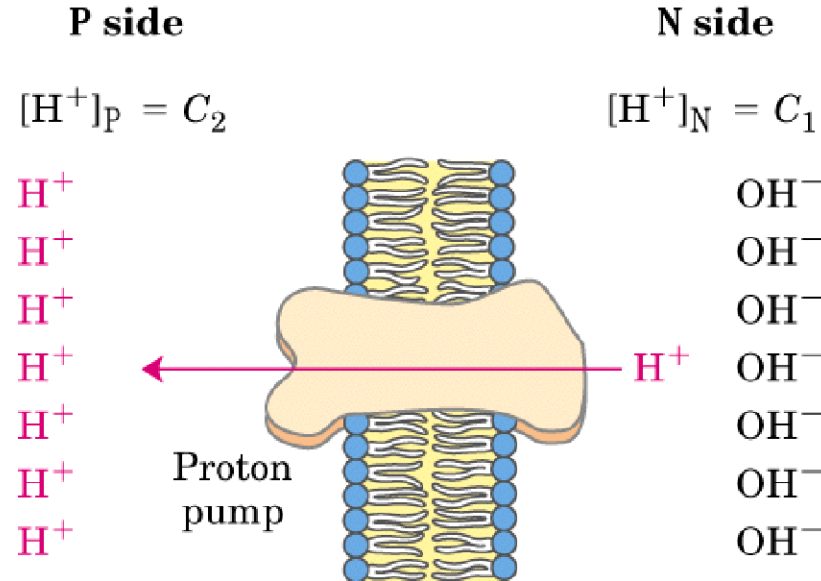


# Cadeia de Transporte de Elétron

- $\text{NADH} \rightarrow \text{O}_2$
- Seqüência de reações de óxido-redução
- Componentes da membrana mitocondrial interna

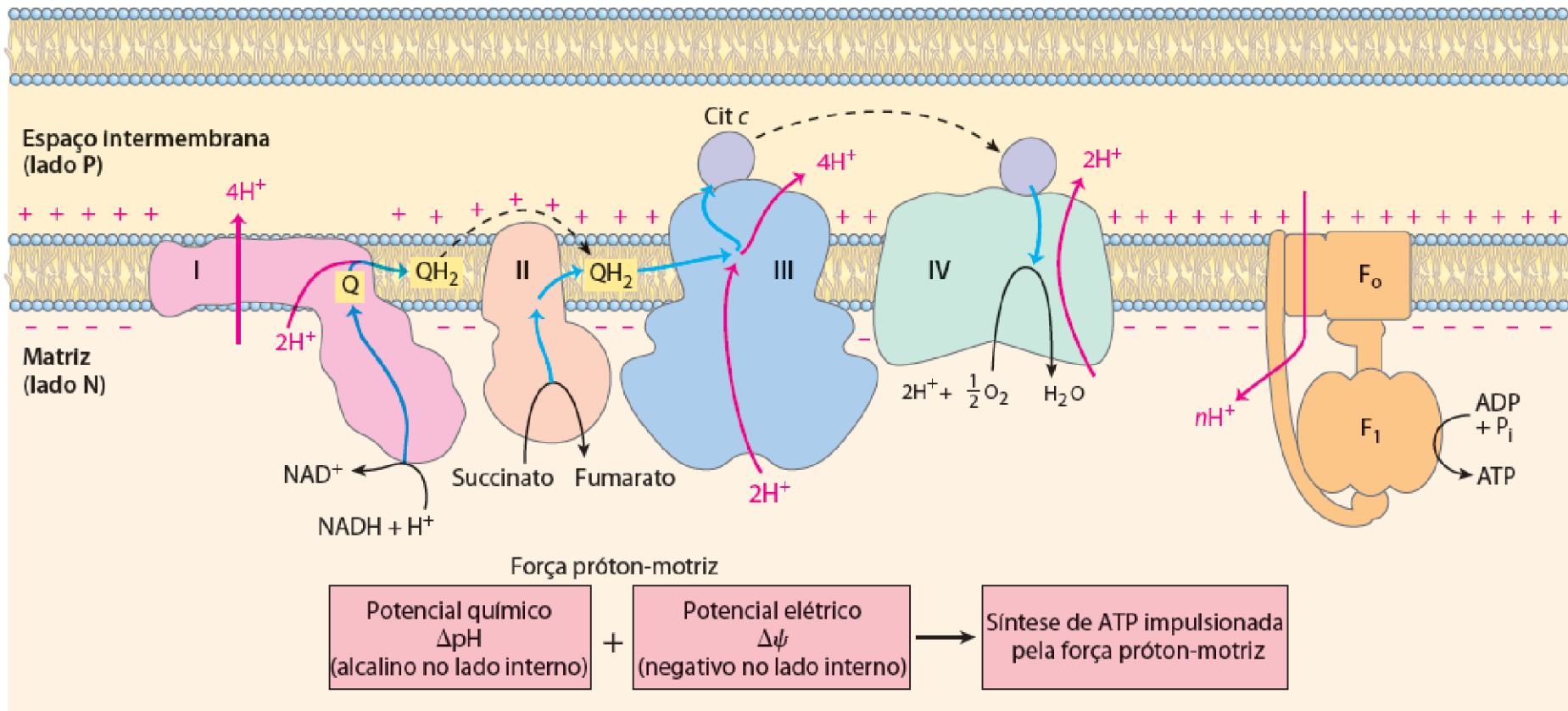


# Modelo Quimiosmótico de Mitchell (Força próton motriz)



- ✓ Energia de transferência de  $e^-$  é conservada na forma de **energia eletroquímica** (diferença de carga e de concentração).
- ✓ Qdo  $H^+$  flui espontaneamente a favor de seu potencial eletroquímico → por meio de um poro para prótons na **ATP-sintase** → gerando energia para realizar trabalho e **impulsionar a síntese de ATP**

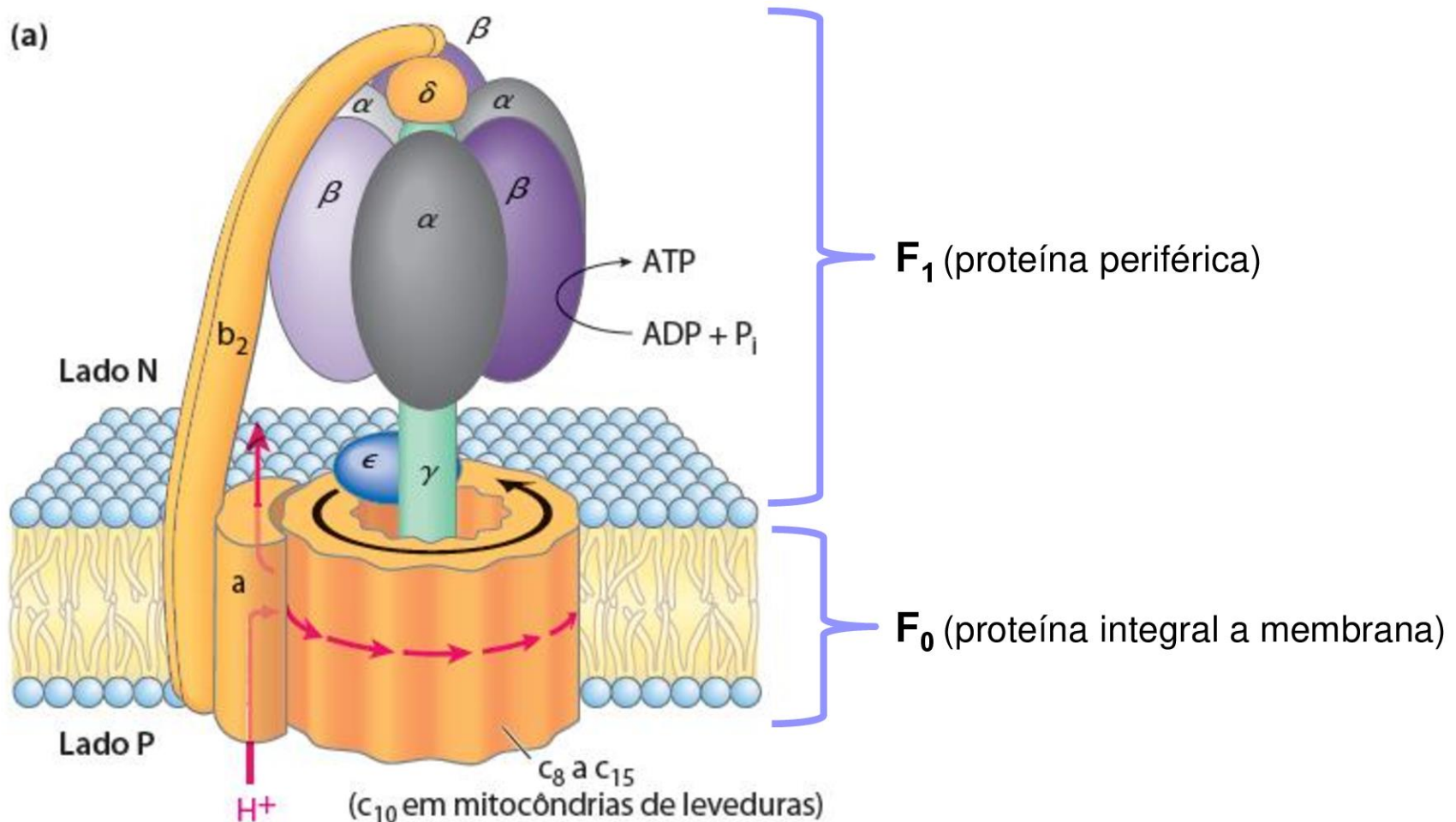
# Acoplamento Quimiosmótico



**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 ( $\Delta\text{pH}$ ) quanto um gradiente elétrico

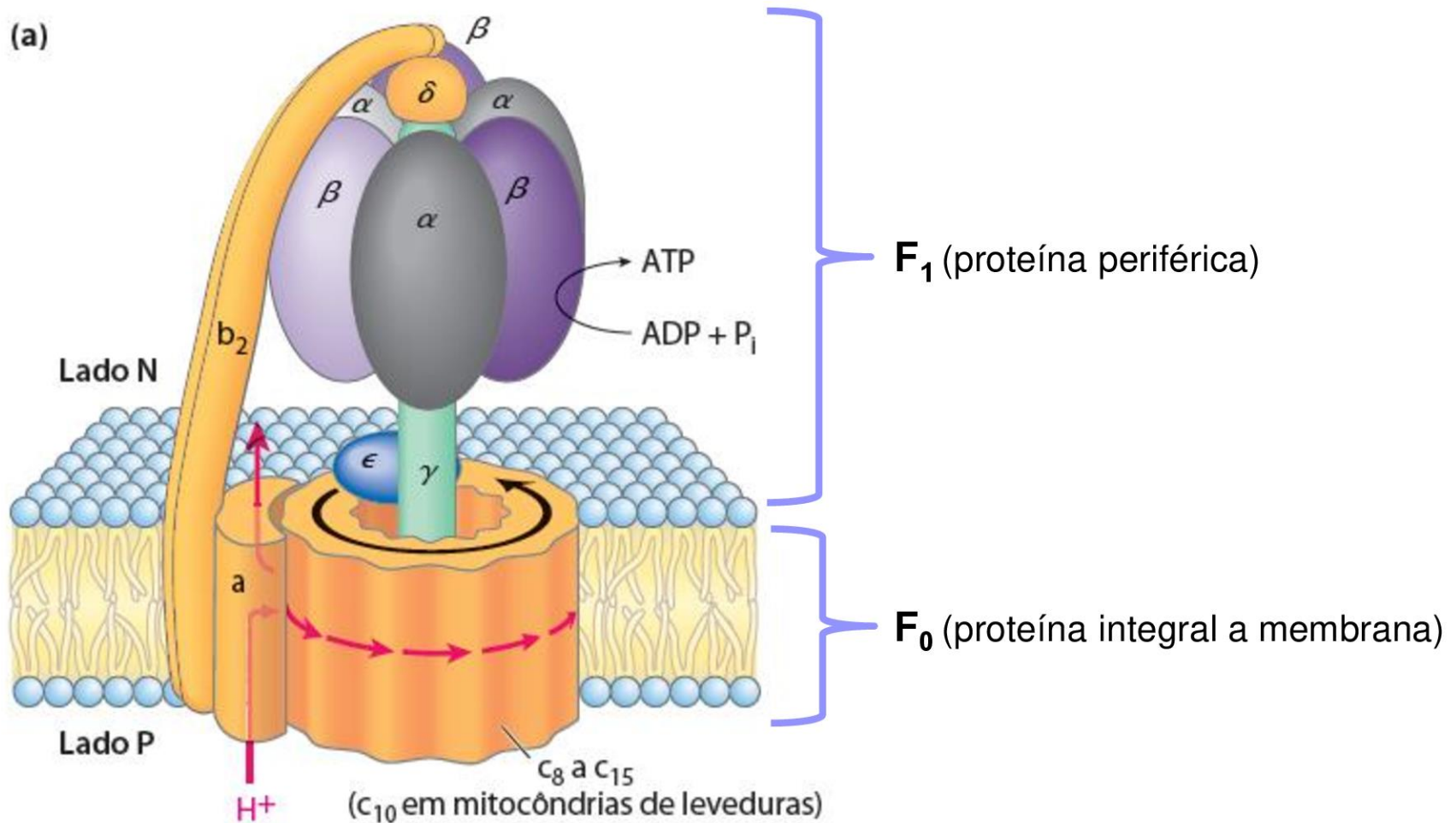
( $\Delta\psi$ ) (combinados, a força próton-motriz). A membrana mitocondrial interna é impermeável a prótons; os prótons só podem retornar à matriz através de canais específicos de prótons ( $\text{F}_0$ ). A força próton-motriz que direciona os prótons de volta para a matriz proporciona a energia para a síntese de ATP, catalisada pelo complexo  $\text{F}_1$ , associado ao  $\text{F}_0$ .

# Síntese do ATP pela ATP-sintase



- ✓ Subunidades  $\beta$  → sítio catalítico para a síntese de ATP.
- ✓ Embora as sequências de aa das três subunidades  $\beta$  sejam idênticas, *suas conformações diferem*, em parte devido à associação da subunidade  $\gamma$  com apenas uma das três
- ✓  $\beta$ -ATP;  $\beta$ -ADP;  $\beta$ -vazio

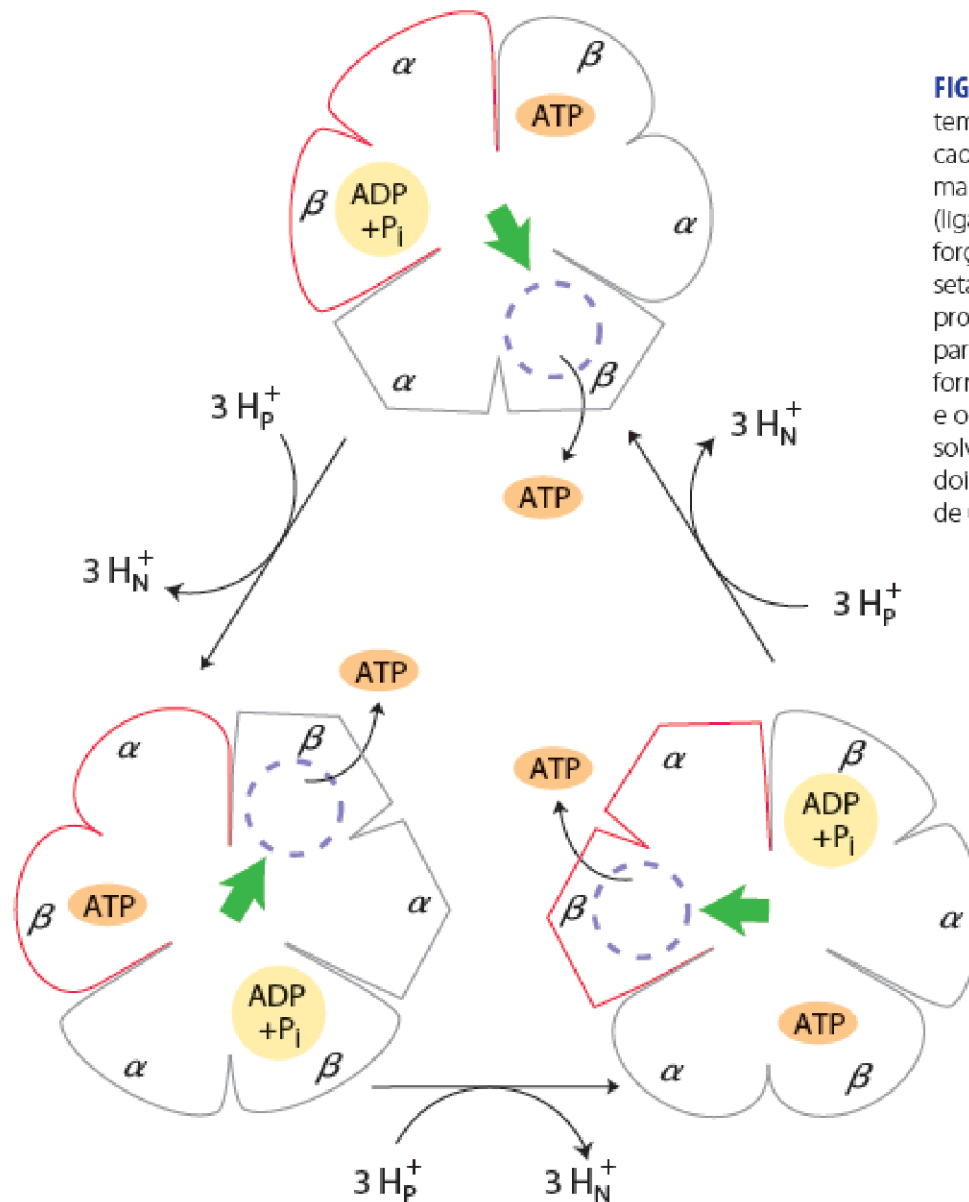
# Síntese do ATP pela ATP-sintase



- ❑  $4H^+$  ( $1H^+$  usado p transporte de ATP, ADP e  $P_i$ )  $\rightarrow$  1ATP
- ❑  $NADH \rightarrow 10H^+ \rightarrow \sim 3$  ATP
- ❑  $FADH_2 \rightarrow 6H^+ \rightarrow \sim 2$  ATP



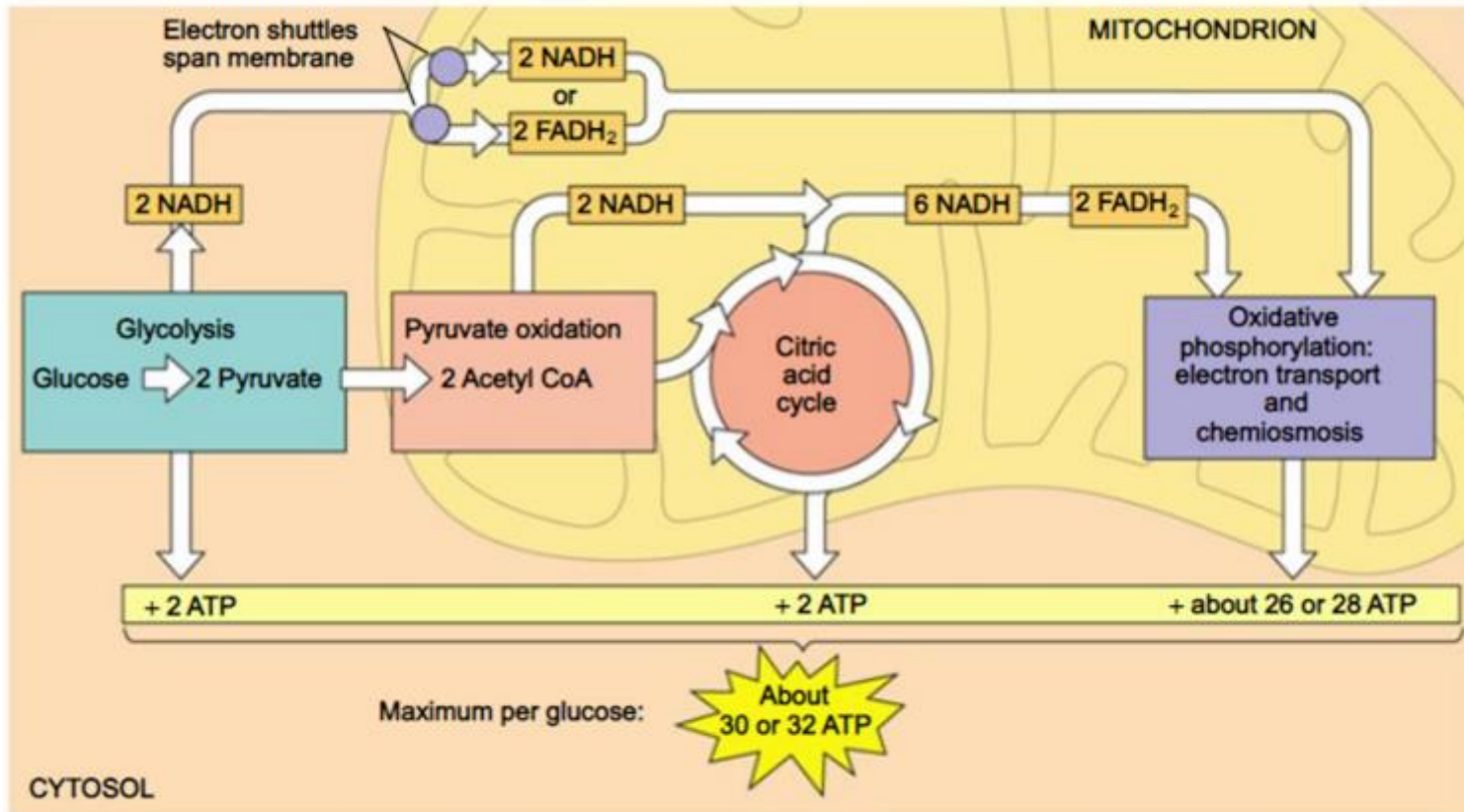
# Síntese do ATP pela ATP sintase



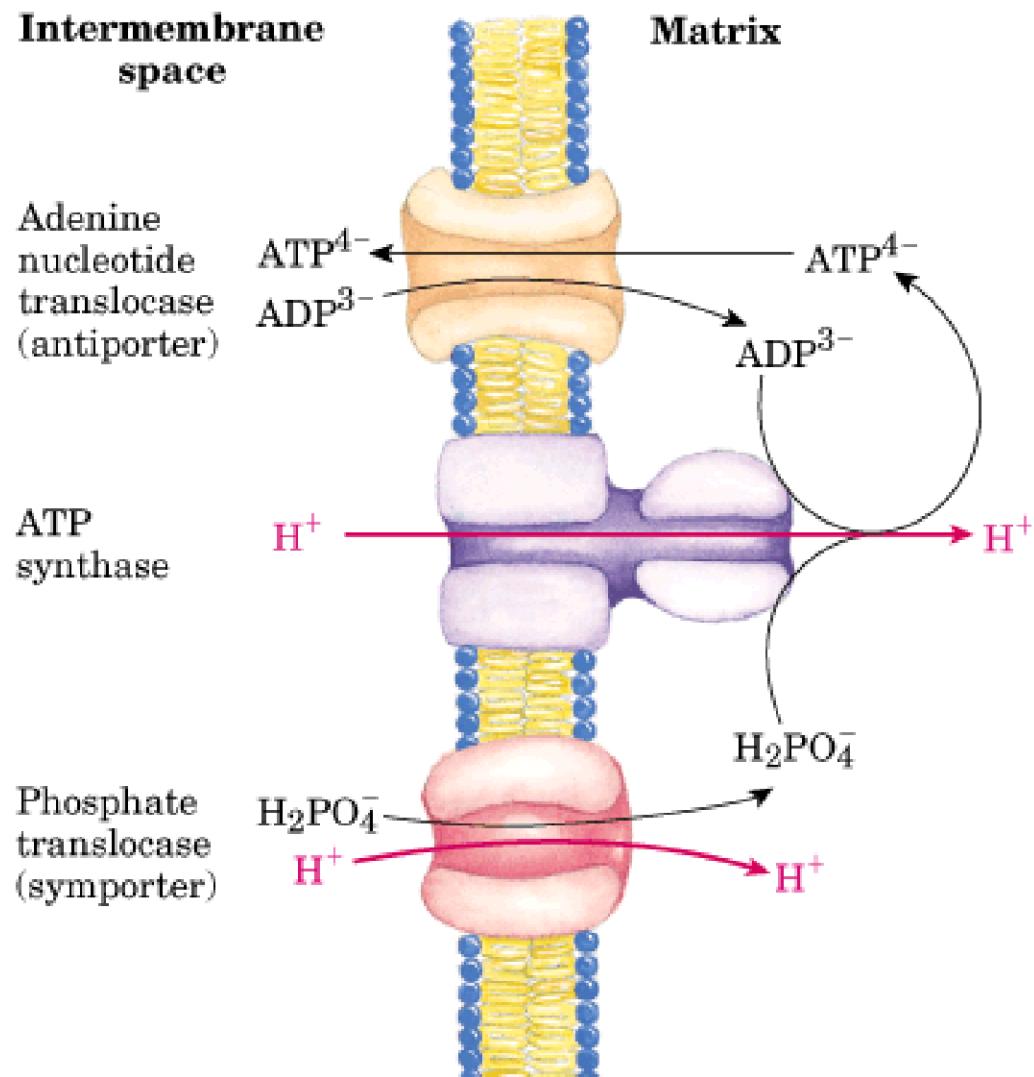
**FIGURA 19-26 Modelo de troca de ligação para a ATP-sintase.** O complexo  $F_1$  tem três sítios não equivalentes para ligação de nucleotídeos de adenina, um para cada par de subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ . A cada momento, um destes sítios está na conformação  $\beta$ -ATP (que liga firmemente ATP), um segundo está na conformação  $\beta$ -ADP (ligação frouxa) e um terceiro está na conformação  $\beta$ -vazio (ligação muito frouxa). A força próton-motriz causa a rotação do eixo central – a subunidade  $\gamma$ , mostrada com seta verde – que entra em contato com cada par de subunidades  $\alpha\beta$  em sucessão. Isto produz uma mudança conformacional cooperativa, na qual o sítio  $\beta$ -ATP é convertido para a conformação  $\beta$ -vazio e o ATP se dissocia; o sítio  $\beta$ -ADP é convertido para a conformação  $\beta$ -ATP, que promove a condensação de  $\text{ADP} + \text{P}_i$  ligados, para formar ATP; e o sítio  $\beta$ -vazio se torna um sítio  $\beta$ -ADP, que liga frouxamente  $\text{ADP} + \text{P}_i$  vindos do solvente. Este modelo, com base em achados experimentais, requer que pelo menos dois destes três sítios catalíticos alternem em atividade; o ATP não pode ser liberado de um sítio a não ser que (e até que)  $\text{ADP}$  e  $\text{P}_i$  se liguem ao outro sítio.

<https://www.youtube.com/watch?v=JdjCzhAS2N8>

<https://www.youtube.com/watch?v=rdF3mnyS1p0&t=145s>

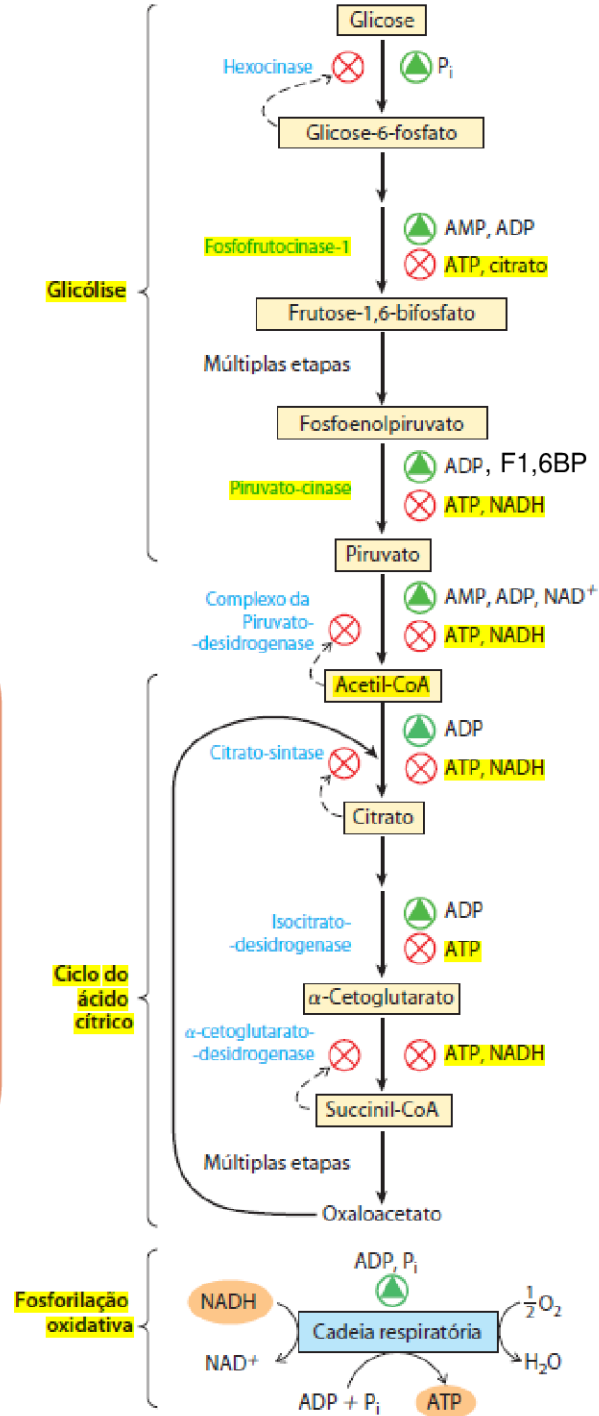


# A passagem de prótons também tem importância indireta na síntese de ATP



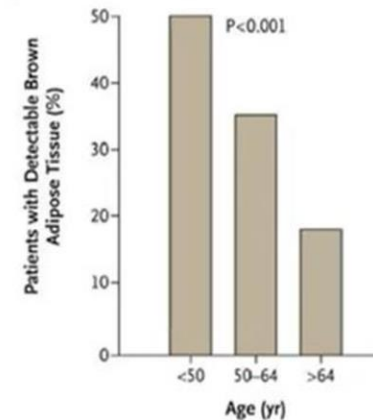
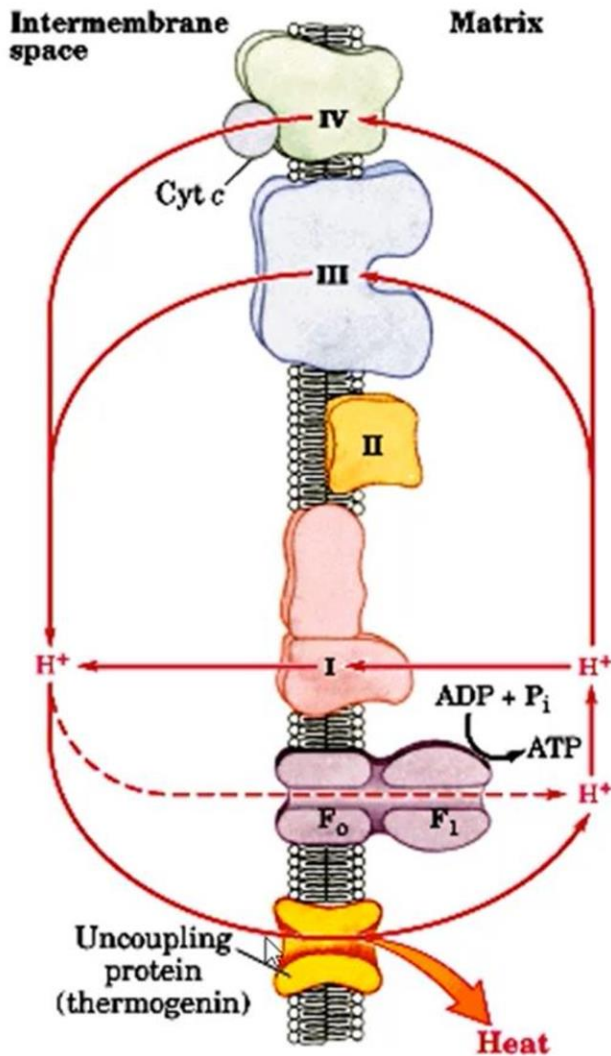
# A CR é direta e indiretamente regulada pela concentração de ADP e pela relação ATP/ADP

- ✓ Sempre que o **consumo** de ATP aumenta, a velocidade da **cadeia transportadora de elétrons** e da **fosforilação oxidativa aumentam**.
- ✓ Simultaneamente, a velocidade de oxidação do piruvato pelo ciclo do **ácido cítrico** aumenta, elevando o **fluxo de elétrons** na **cadeia respiratória**.



# Geração de calor pela mitocôndria

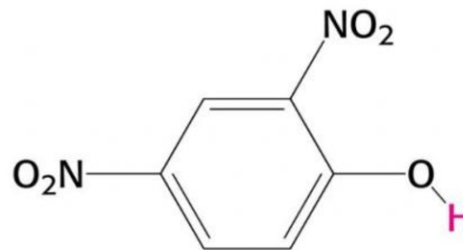
- ✓ A maioria dos mamíferos recém-nascidos tem um tipo de tecido adiposo chamado de **tecido adiposo marrom**, no qual a oxidação de combustível serve não para produzir ATP, mas para gerar **calor**
- ✓ **Termogenina** (proteína desacopladora)



Cypess et al., N Engl J Med. 2009 360:1509-17.

# Desacopladores da cadeia respiratória

- Substâncias que dissociam o transporte de elétrons da fosforilação oxidativa (síntese de ATP).

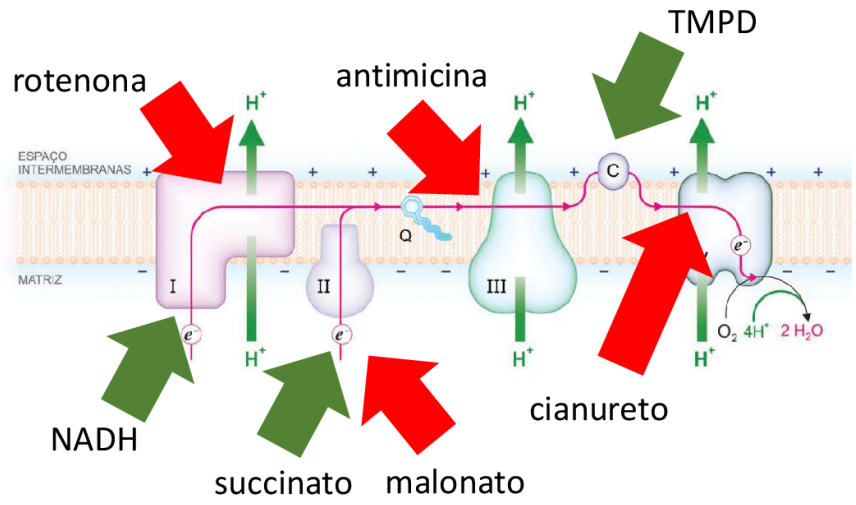
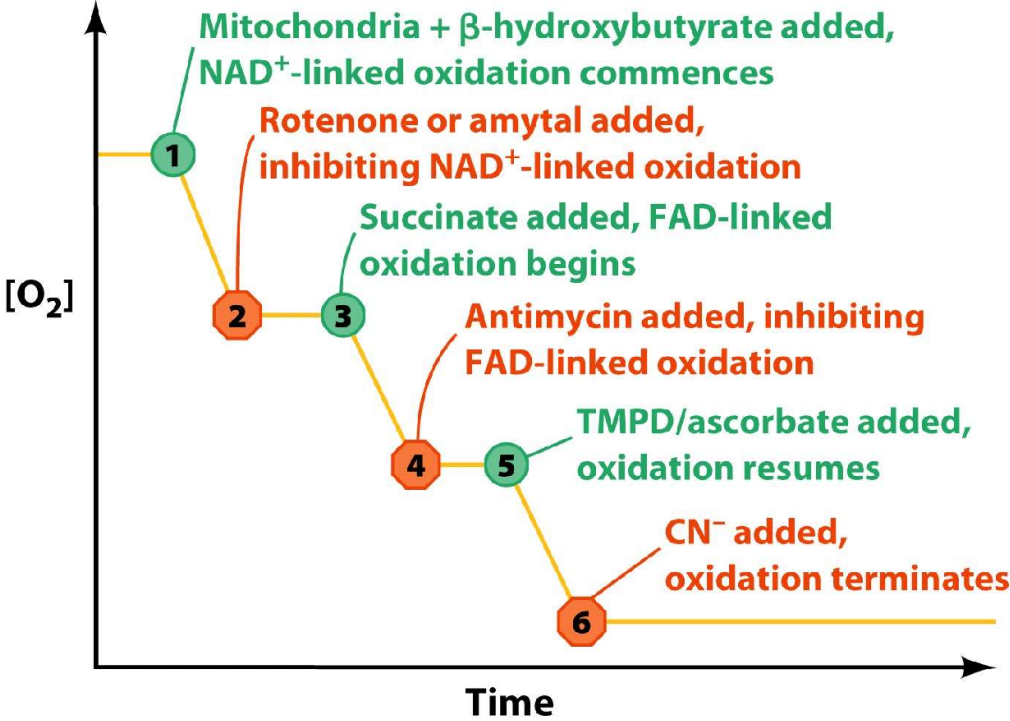


**2,4-Dinitrophenol (DNP)**

Ácido fraco hidrofóbico

- Usado em síntese orgânica, fabricação de pesticidas e explosivos, revelador de filmes fotográficos
- Trabalhadores da indústria de explosivos → febre alta e óbito
- Está protonado no exterior da mitocôndria onde a [H<sup>+</sup>] é maior → se difunde através da membrana plasmática → libera próton na matriz mitocondrial → energia que seria usada para a síntese de ATP é dissipada na forma de calor.

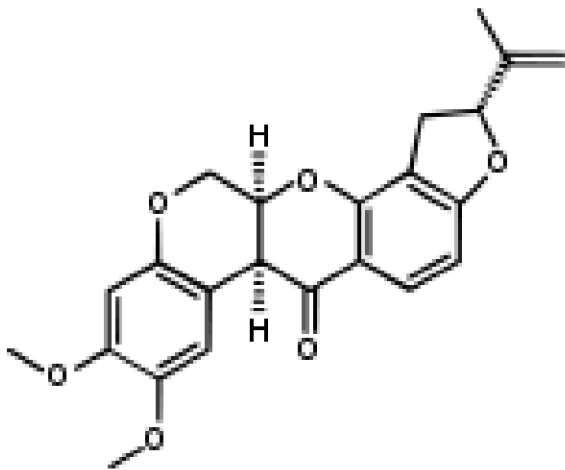
# Efeito de inibidores na foforilação oxidativa



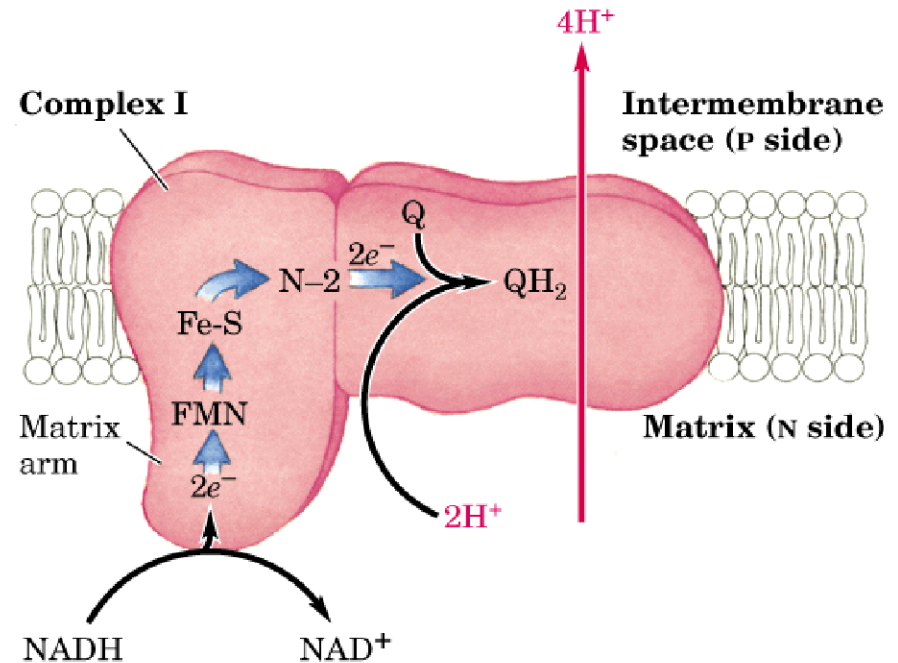
# Inibidores da cadeia respiratória

## ROTENONA → Inibidor do complexo I

Impede a transferência de  $e^-$  do Fe-S para a Q



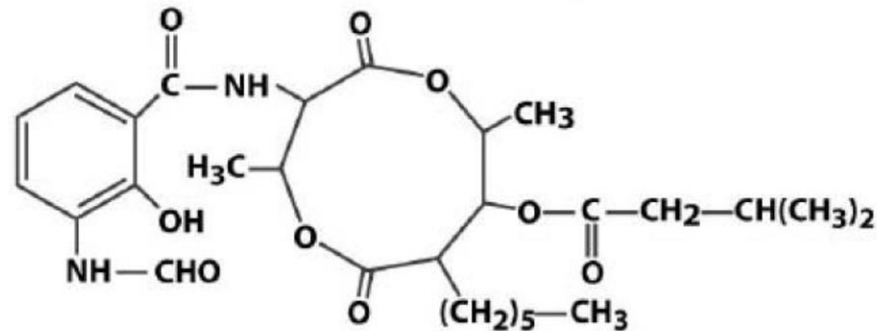
ROTENONA:  
pesticida, inseticida  
e piscicida



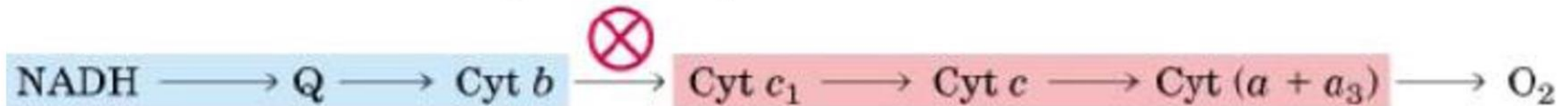


# Inibidores da cadeia respiratória

## ANTIMICINA → Inibidor do complexo III



antimycin A      antibiótico



- Substância antibiótica produzida por espécies de streptomyces. Usado como fungicida, inseticida, pesticida

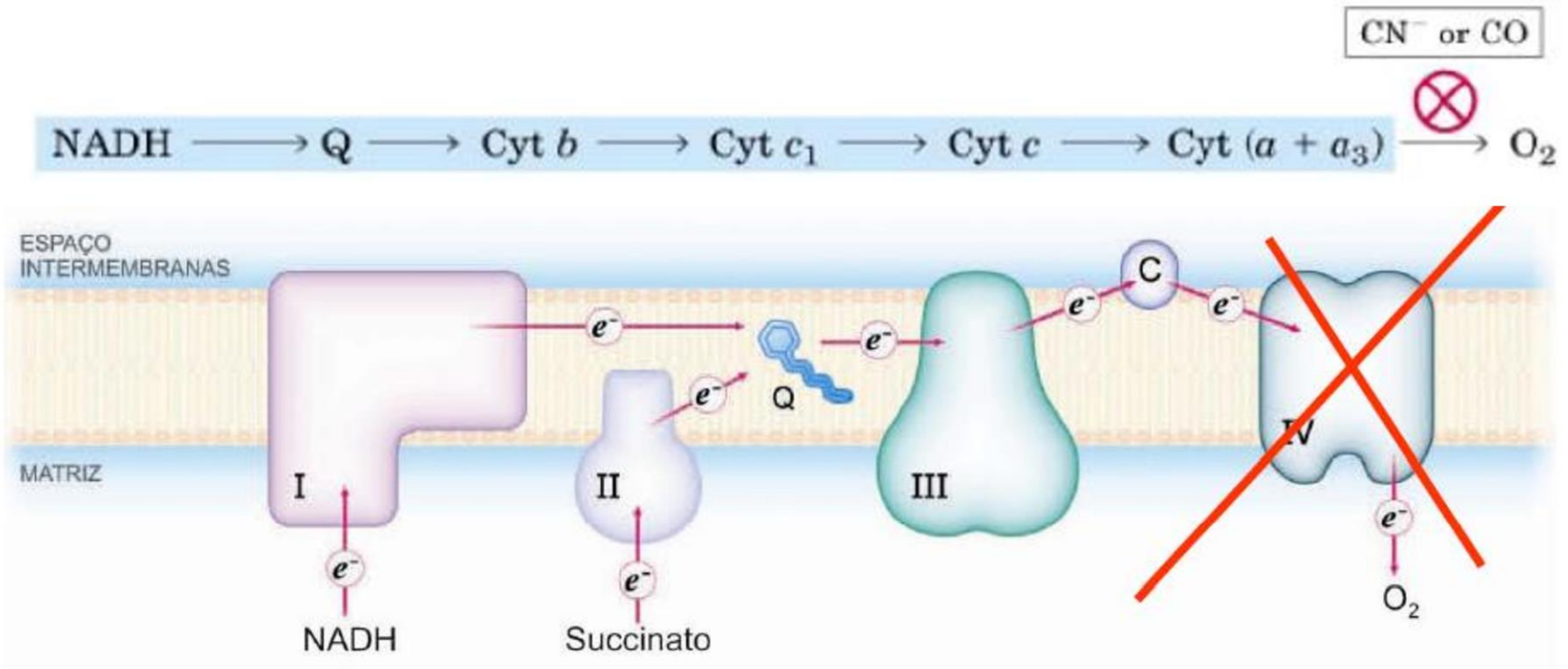
# Inibidores da cadeia respiratória

## Bloqueadores no complexo IV:

Cianeto ( $-\text{C}\equiv\text{N}$ )

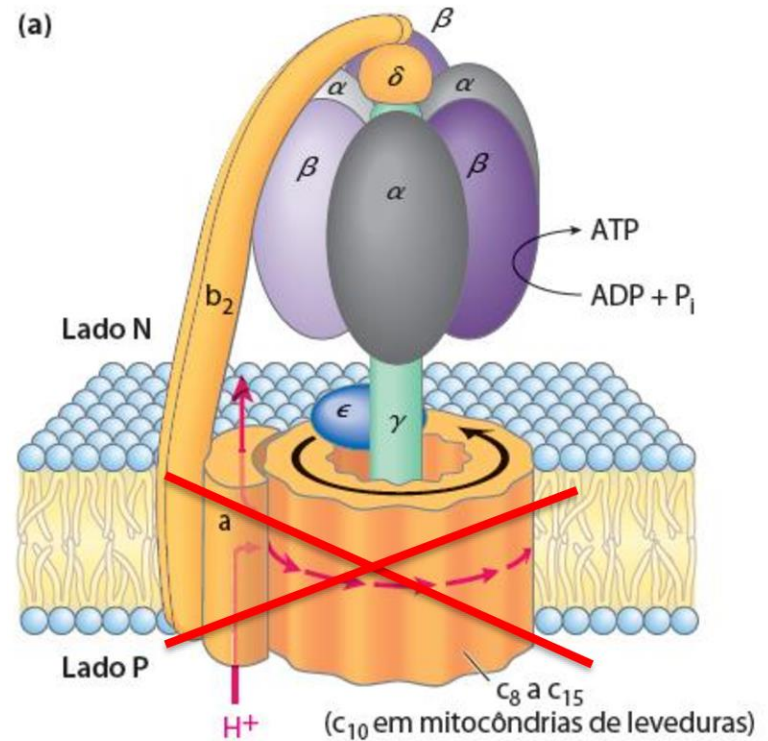
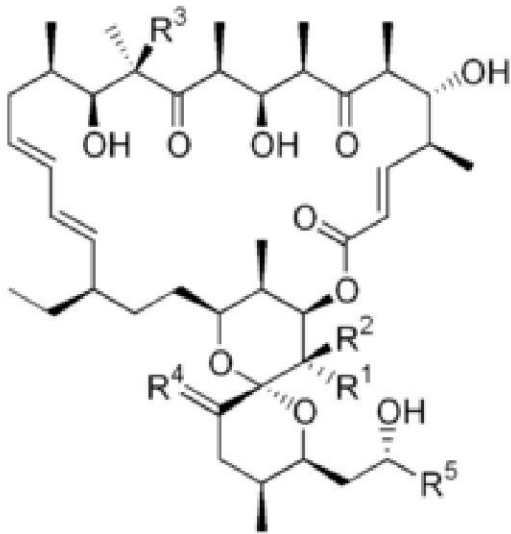
Monóxido de carbono (CO)


Azida ( $\text{N}^{\ominus}=\text{N}^{\oplus}=\text{N}^{\ominus}$ )



# Inibidor da síntese de ATP na fosforilação oxidativa

**OLIGOMICINA** (antibiótico): se liga ao  $F_0$  da ATP-sintase e bloqueia a passagem dos prótons no poro, inibindo a síntese de ATP.





Descrever o funcionamento do Ciclo de Krebs e da Via Glicolítica em uma suspensão de células hepáticas na presença dos seguintes compostos:

- a) Antimicina
- b) Oligomicina
- c) Dinitrofenol
- d) Antimicina + dinitrofenol
- e) Oligomicina + dinitrofenol