



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – FACS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS - DCB  
CURSO DE MEDICINA  
DISCIPLINA: CITOLOGIA E ORGANIZAÇÃO BIOMOLECULAR

# Oxidações biológicas e formação de ATP

**Prof. Paula Moreira**

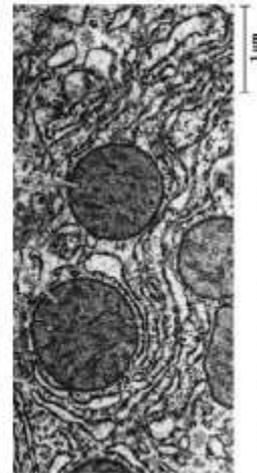
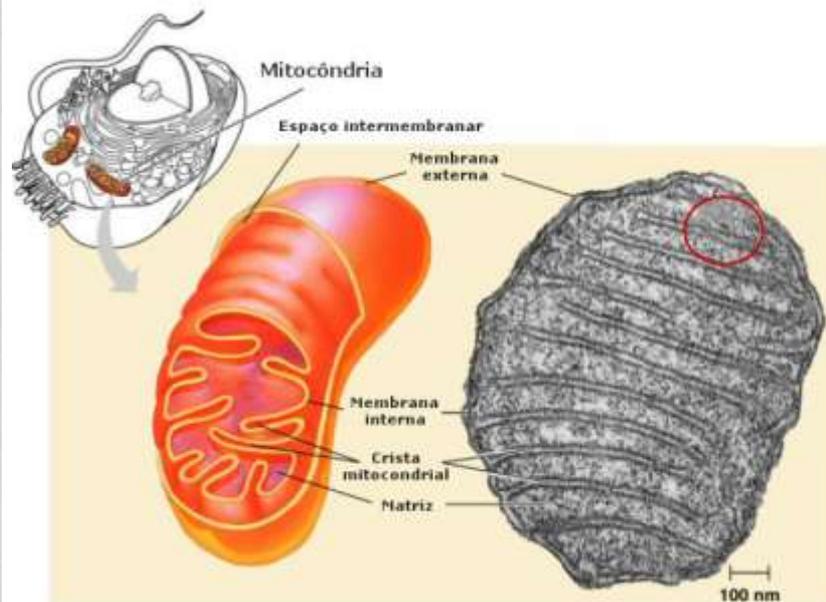
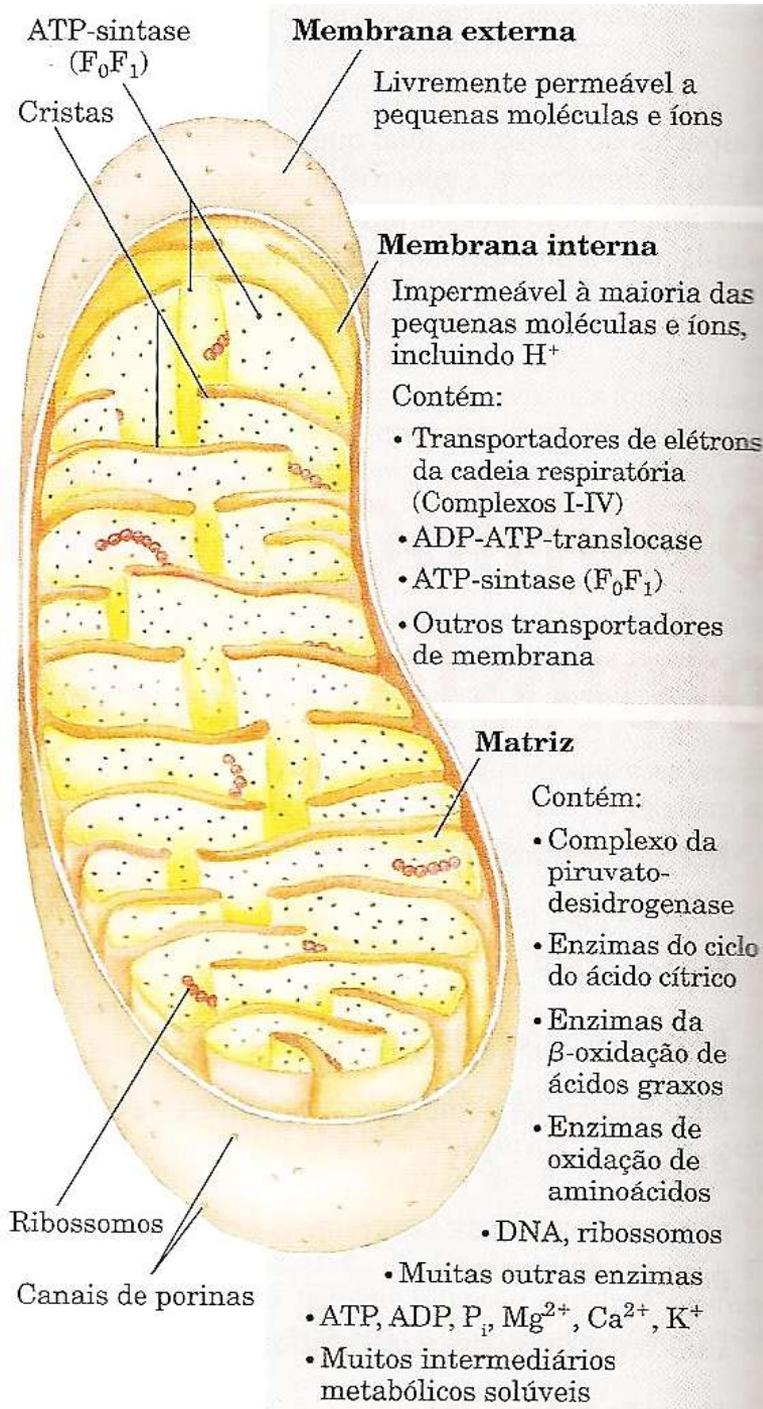
# Fosforilação oxidativa

- Estágio final da respiração celular
- Final do metabolismo produtor de energia em organismos aeróbios
  - Processo altamente eficiente de conversão de energia
  - Envolve o fluxo de elétrons através de uma cadeia de transportadores de membrana
- Redução de  $O_2$  a  $H_2O$  a partir de elétrons doados por NADH e  $FADH_2$

# Localização da cadeia respiratória

## MITOCÔNDRIAS: Sítios da fosforilação oxidativa

### Membrana mitocondrial interna



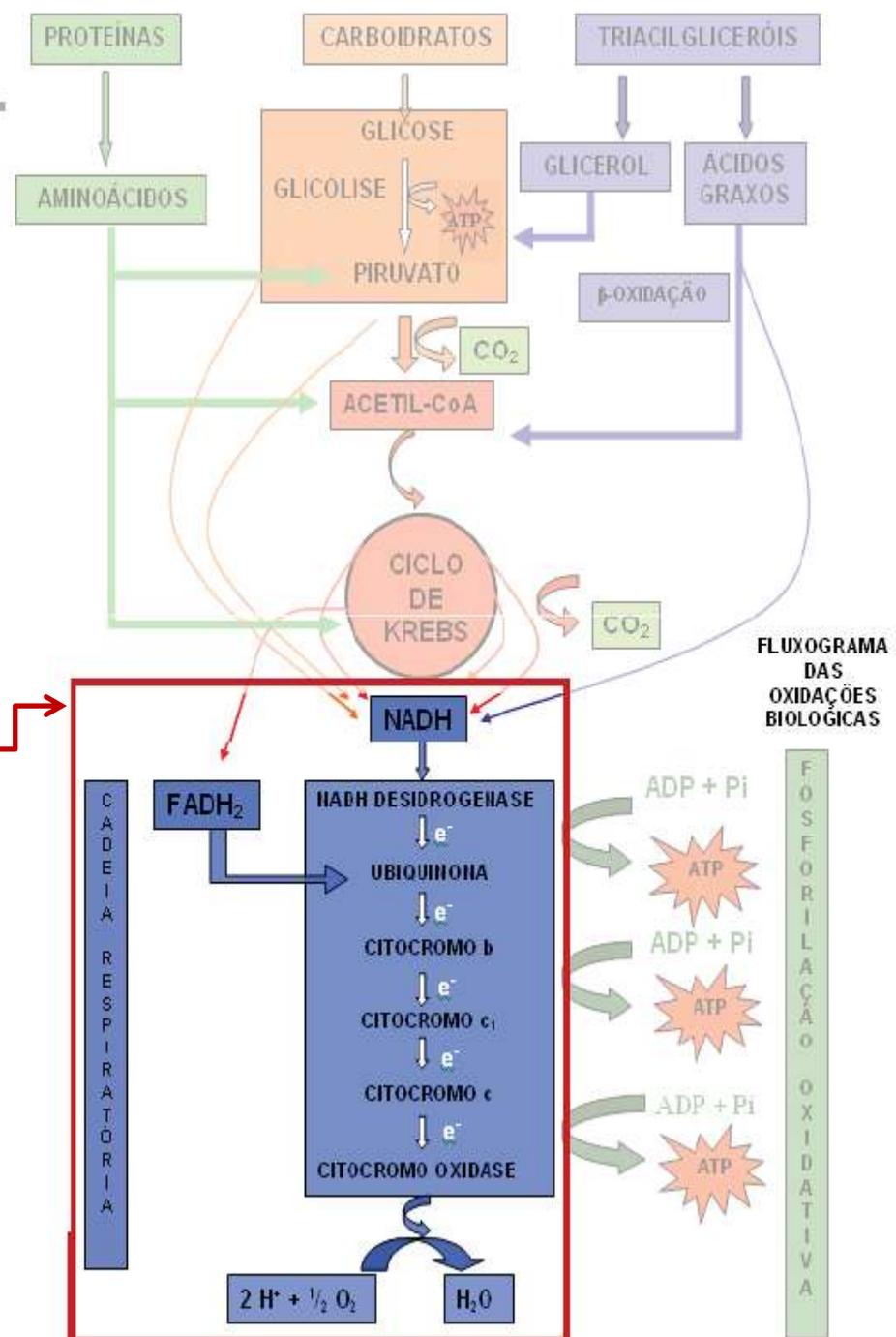
**Cadeia Respiratória  
=  
Cadeia de Transporte de Elétrons**

**via final comum**

**através da qual todos os  
elétrons**

**provenientes dos diferentes  
combustíveis celulares (S)**

**fluem para o  $O_2$   
(oxidante e acceptor final de  $e^-$ )**



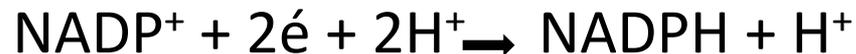
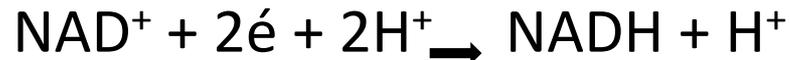
# Entrada de elétrons na cadeia respiratória

– Elétrons são coletados (desidrogenases) das vias catabólicas e canalizados p/ aceptores universais de elétrons

- Desidrogenases ligadas ao  $\text{NAD}^+$  removem  $2\text{H}^+$  dos substratos

– 1 transferido como íon hidreto ( $:\text{H}^-$ ) ao  $\text{NAD}^+$

– 1 liberado como  $\text{H}^+$  no meio



– Nucleotídeos transportadores não atravessam a membrana mitocondrial interna

- Elétrons carregados são lançados através da membrana

# Lançadeiras conduzem indiretamente NADH citosólico p/ mitocôndrias p/ reoxidação

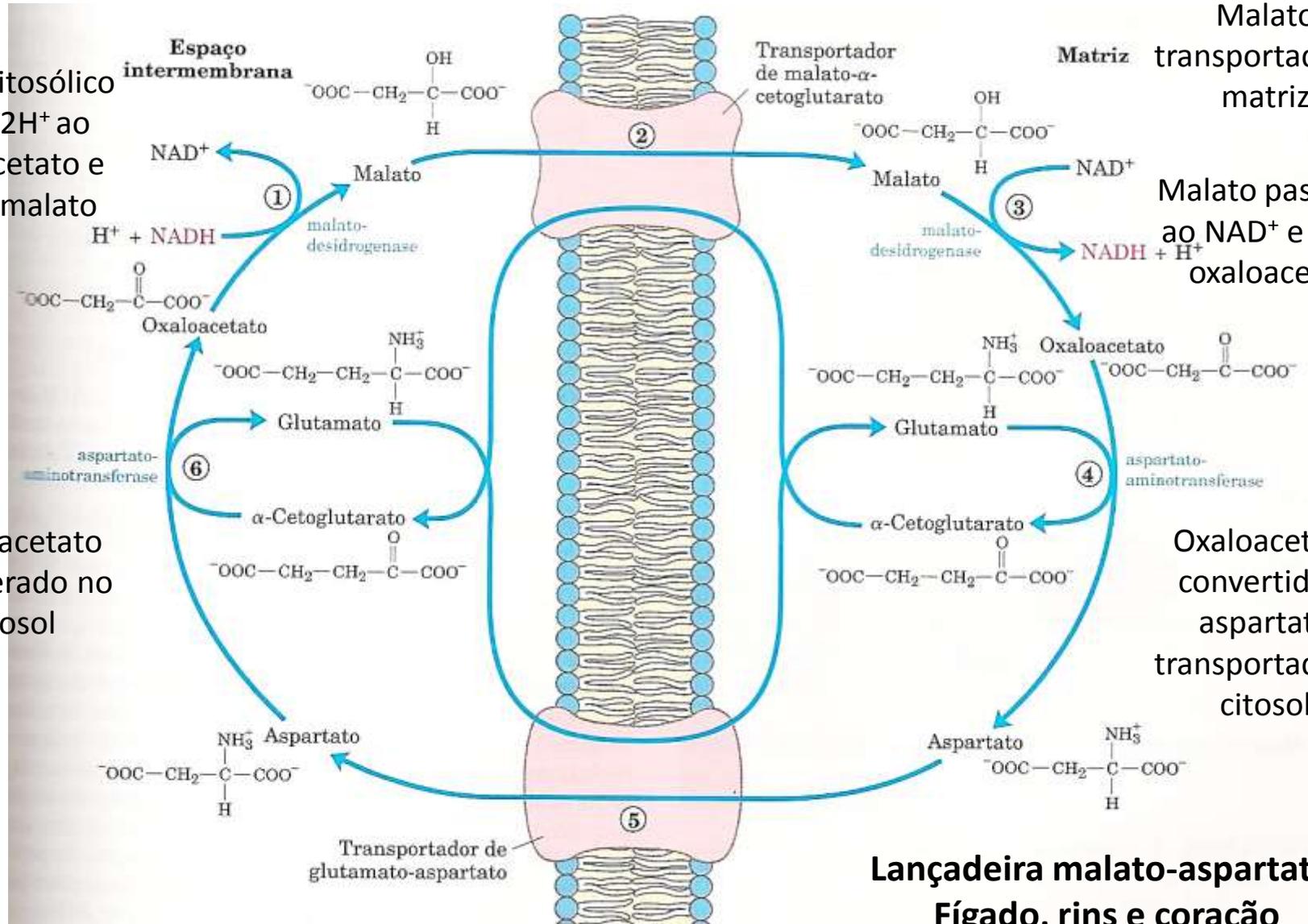
Malato transportado p/ matriz

Malato passa 2H<sup>+</sup> ao NAD<sup>+</sup> e forma oxaloacetato

Oxaloacetato convertido a aspartato transportado p/ citosol

Oxaloacetato regenerado no citosol

Lançadeira malato-aspartato: Fígado, rins e coração

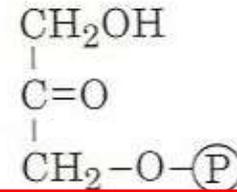
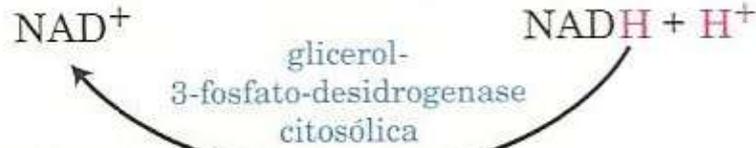


NADH citosólico passa 2H<sup>+</sup> ao oxaloacetato e forma malato

Oxaloacetato regenerado no citosol

Espaço intermembrana (lado P)

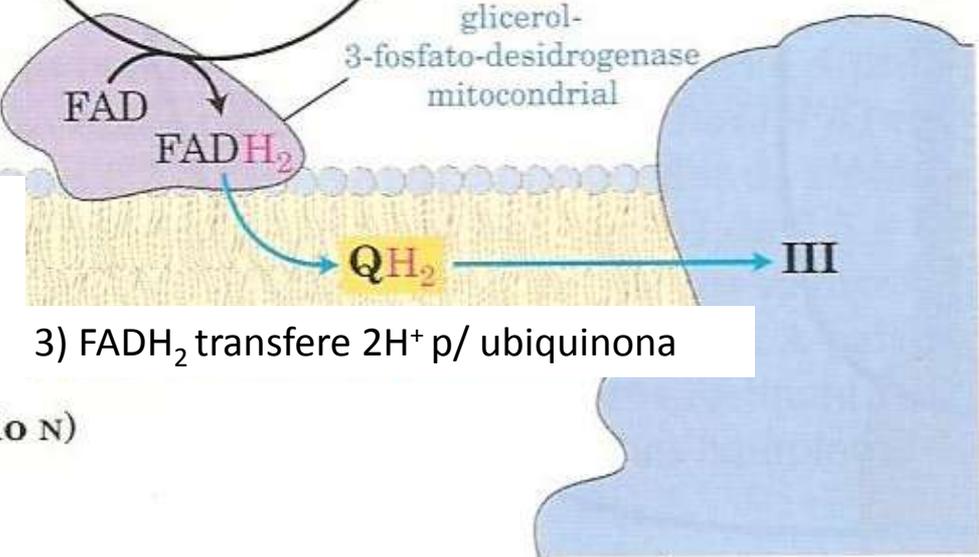
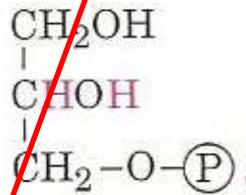
## Lançadeira glicerol-3-fosfato: Músculo esquelético e encéfalo



1) Recebe  $2\text{H}^+$  do  $\text{NADH}$  citosólico

Glicerol-3-fosfato

Diidroxiaçetonafosfato



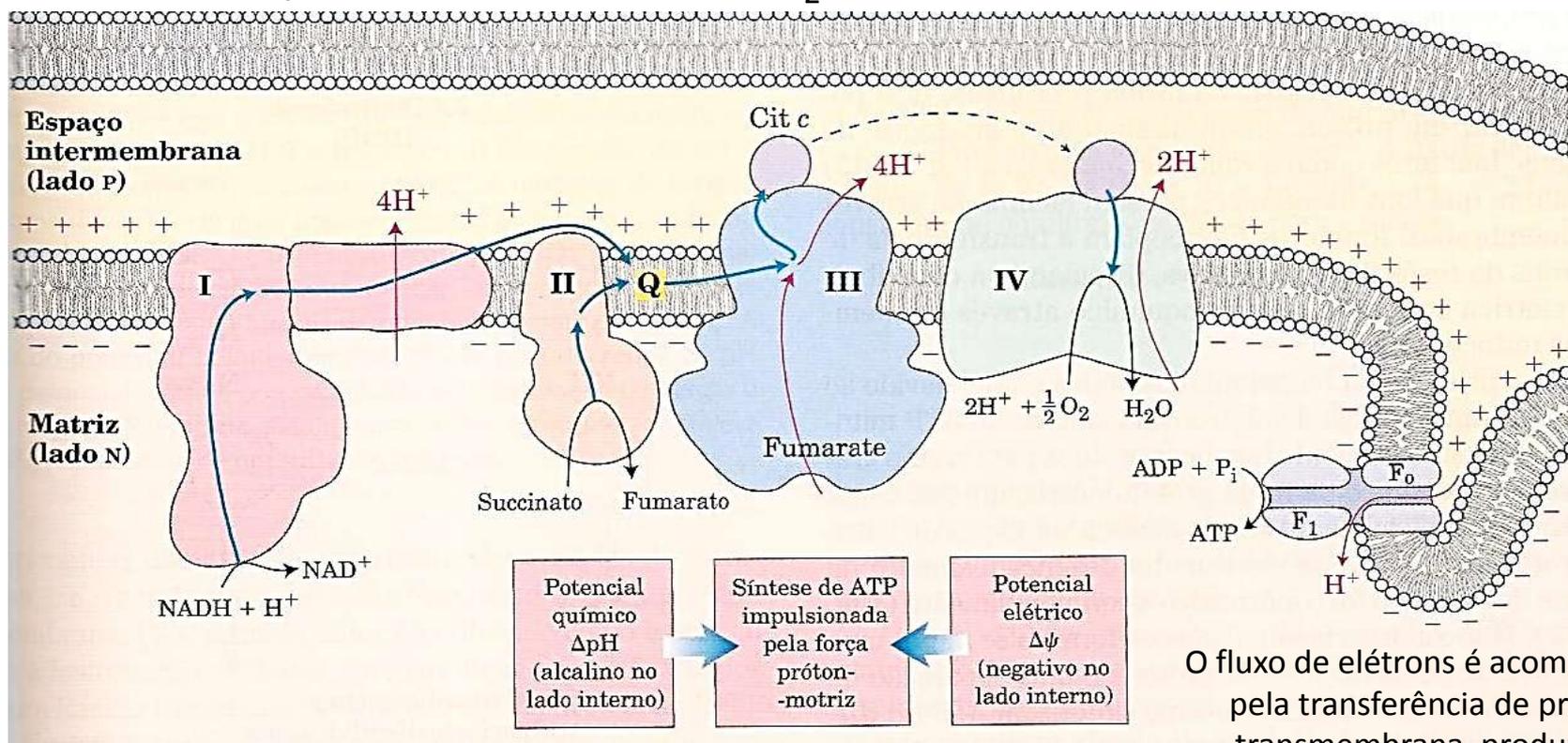
2) Transfere  $2\text{H}^+$  p/ ubiquinona através da isoenzima mitocondrial

3)  $\text{FADH}_2$  transfere  $2\text{H}^+$  p/ ubiquinona

Matriz (lado N)

# Cadeia respiratória

- **Consiste de série de carreadores que agem sequencialmente**
  - Proteínas integrais com grupos prostéticos capazes de aceitar ou doar 1 ou 2 elétrons
  - Elétrons presentes na matriz mitocondrial provenientes dos transportadores NADH e  $\text{FADH}_2$  do citosol e da matriz



O fluxo de elétrons é acompanhado pela transferência de prótons transmembrana, produzindo gradientes químico e elétrico

# Moléculas carreadoras de elétrons

- $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$
- FAD, FMN
- Ubiquinona (coenzima Q)
- Citocromos (a, b e c)
- Proteínas ferro-enxofre (Fe-S)

# Os carregadores de elétrons atuam em complexos multienzimáticos

**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> <sup>†</sup>	13	1	Heme
IV Citocromo-oxidase	160	13 (3-4)	Hemes; Cu <sub>A</sub> , Cu <sub>B</sub>

\*Números de subunidades em equivalentes bacterianos entre parênteses.

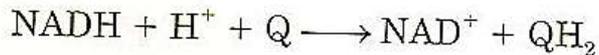
<sup>†</sup>O citocromo *c* não é parte do complexo enzimático; ele se move entre os Complexos III e IV como uma proteína livremente solúvel.

- Complexo I catalisa transferência de e<sup>-</sup> p/ ubiquinona a partir de NADH
- Complexo II catalisa transferência de e<sup>-</sup> p/ ubiquinona a partir de Succinato
- Complexo III transfere e<sup>-</sup> da ubiquinona reduzida p/ Citocromo *c*
- Complexo IV transfere e<sup>-</sup> do Citocromo *c* p/ O<sub>2</sub>

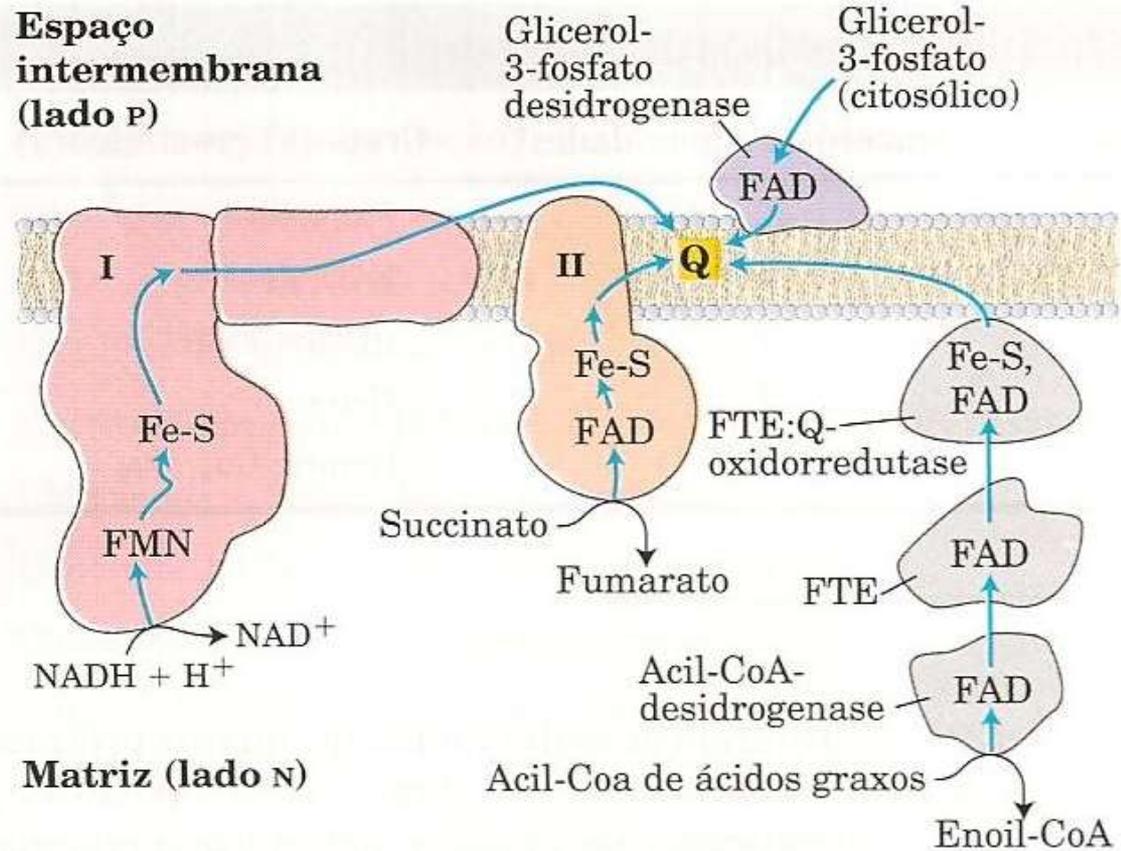
# Complexo I = NADH-desidrogenase = NADH: ubiquinona-oxidoredutase

- NADH a ubiquinona
- Contém FMN e centros Fe-S
- Formato L (membrana p/ matriz)
- Catalisa 2 processos simultâneos e acoplados

1) Transferência exergônica de 1 íon hidreto (:H<sup>-</sup>) do NADH + H<sup>+</sup> da matriz à ubiquinona

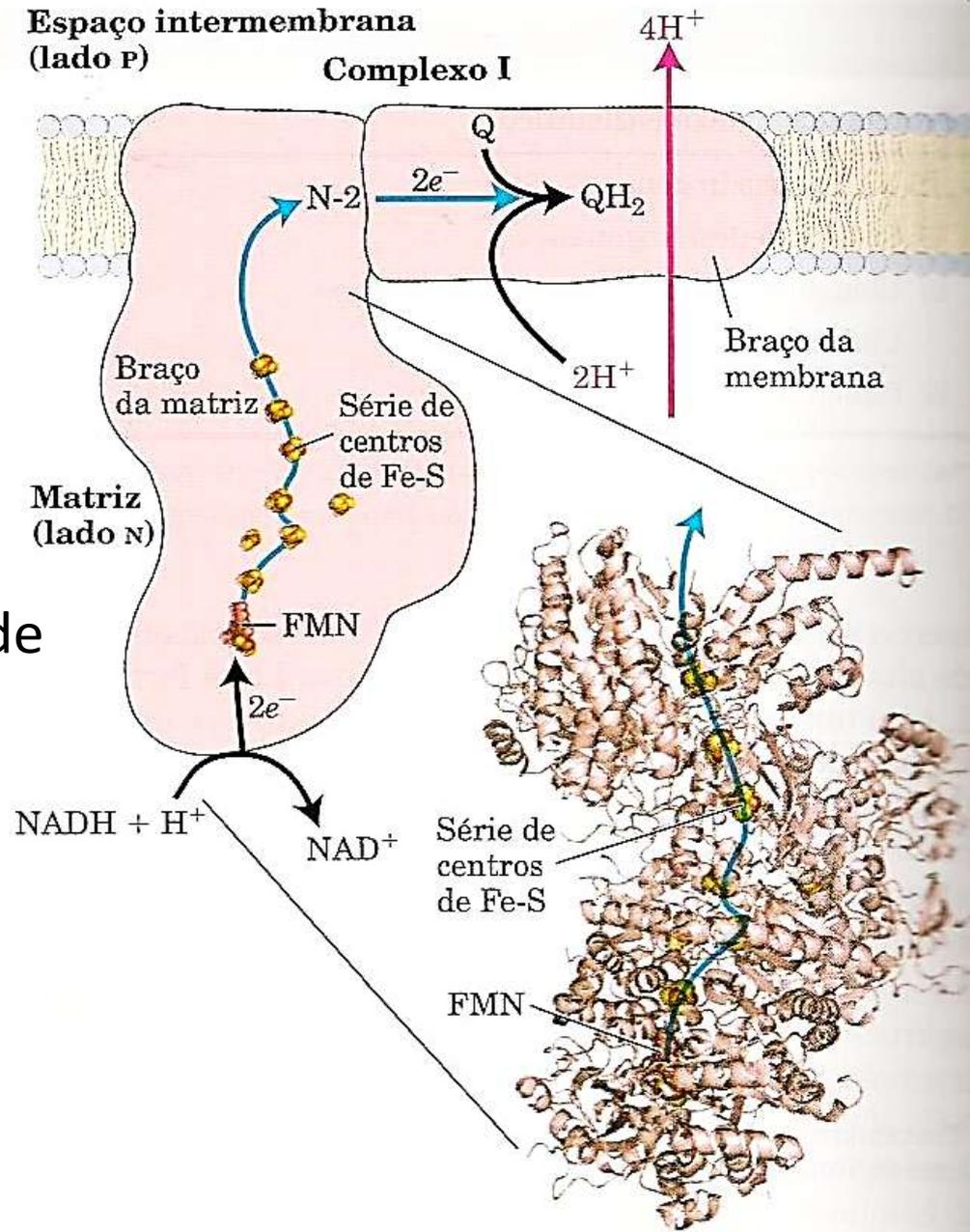


2) Transferência endergônica vetorial de 4 prótons (H<sup>+</sup>) da matriz p/ espaço intermembrana

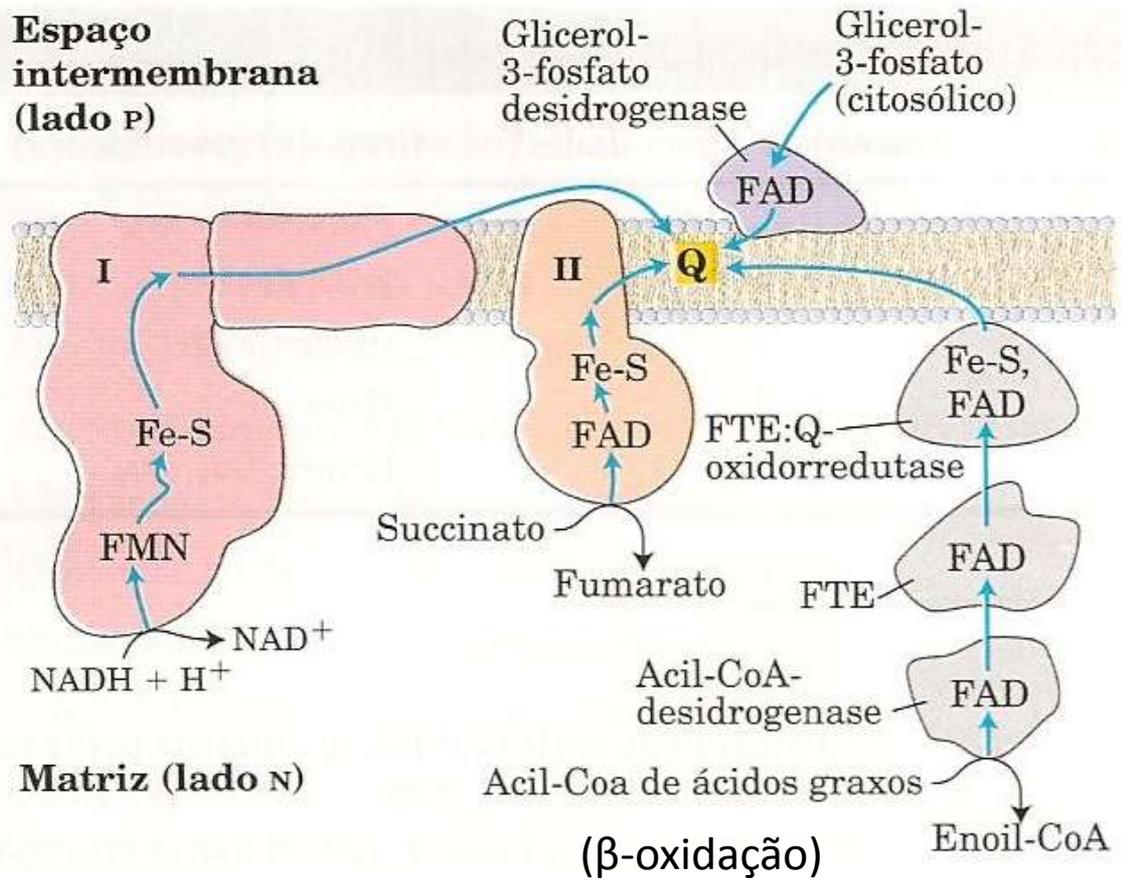


- $\text{QH}_2$  (ubiquinol) difunde-se na MMI do complexo I ao III onde é oxidado a Q

Bombeamento de  $4 \text{H}^+$  por par de elétrons p/ citosol a partir da energia de transferência dos  $e^-$  (mecanismo desconhecido)

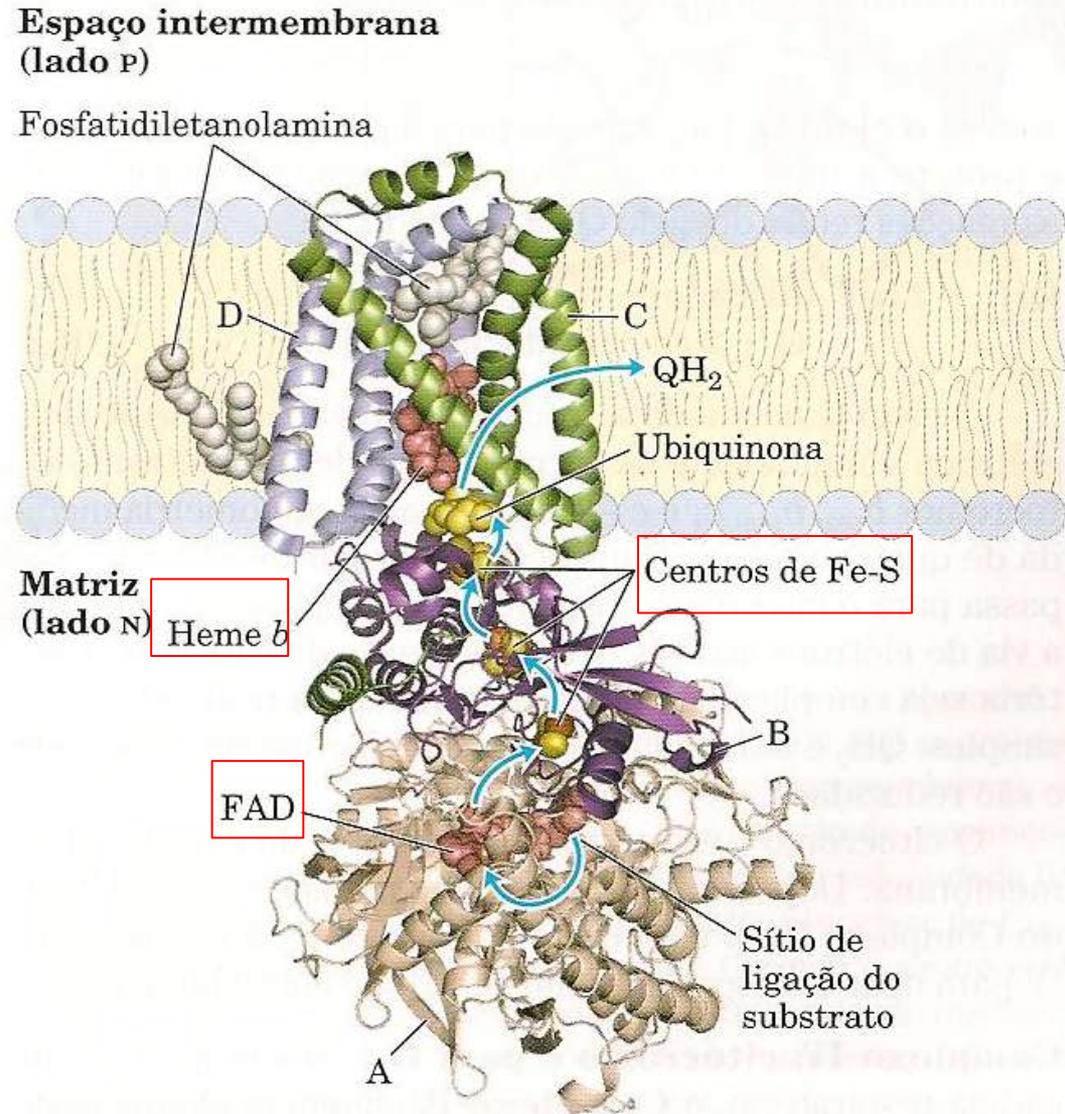


- 1º passo da  $\beta$ -oxidação da acil-CoA envolve a transferência de  $e^-$  p/ FAD
- Transferência  $e^-$  p/ FTE (flavoproteína transferidora de  $e^-$ )
- Transferência de  $e^-$  p/ FTE-ubiquinona-oxidoredutase
- Transferência de  $e^-$  p/ ubiquinona



# Complexo II = Succinato-desidrogenase

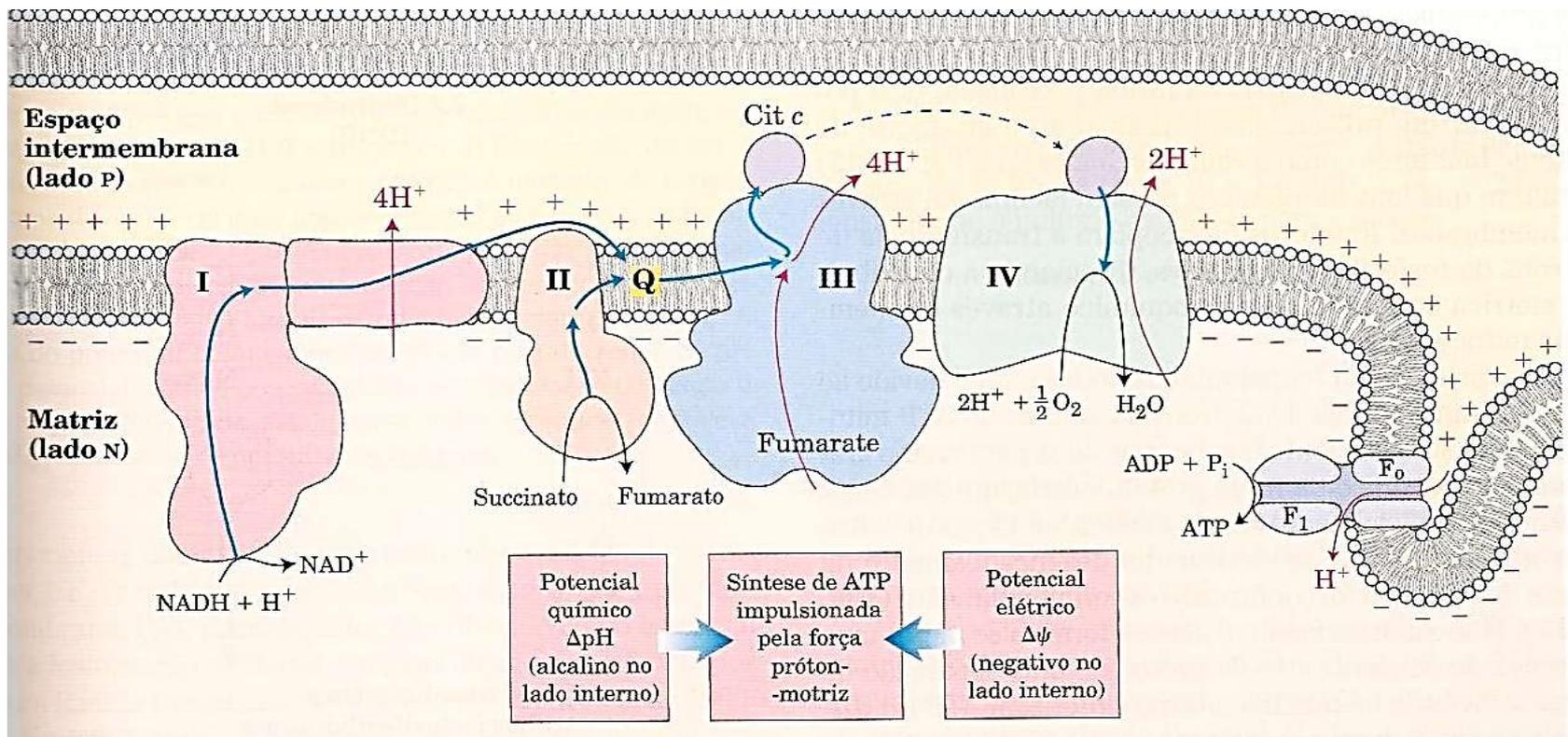
- Succinato a ubiquinona
- Succinato-desidrogenase: única enzima do ciclo de Krebs ligada à membrana
- Contém 5 grupos prostéticos e 4 subunidades proteicas diferentes
  - A e B na matriz contém 3 centros Fe-S, FAD e sítio de ligação p/ succinato
  - C e D são proteínas integrais de membrana contém grupo heme e sítio de ligação p/ ubiquinona
- Via de transferência:  
Sítio de ligação substrato – FAD -  
FAD – centros Fe-S - sítio de ligação  
Q



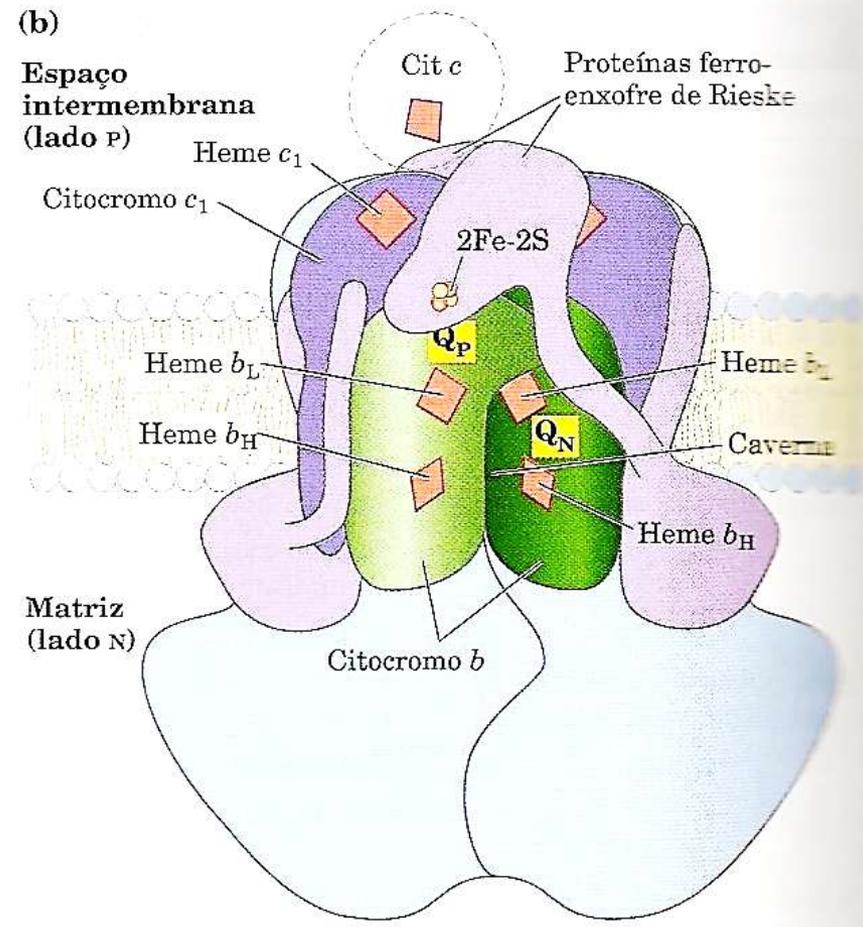
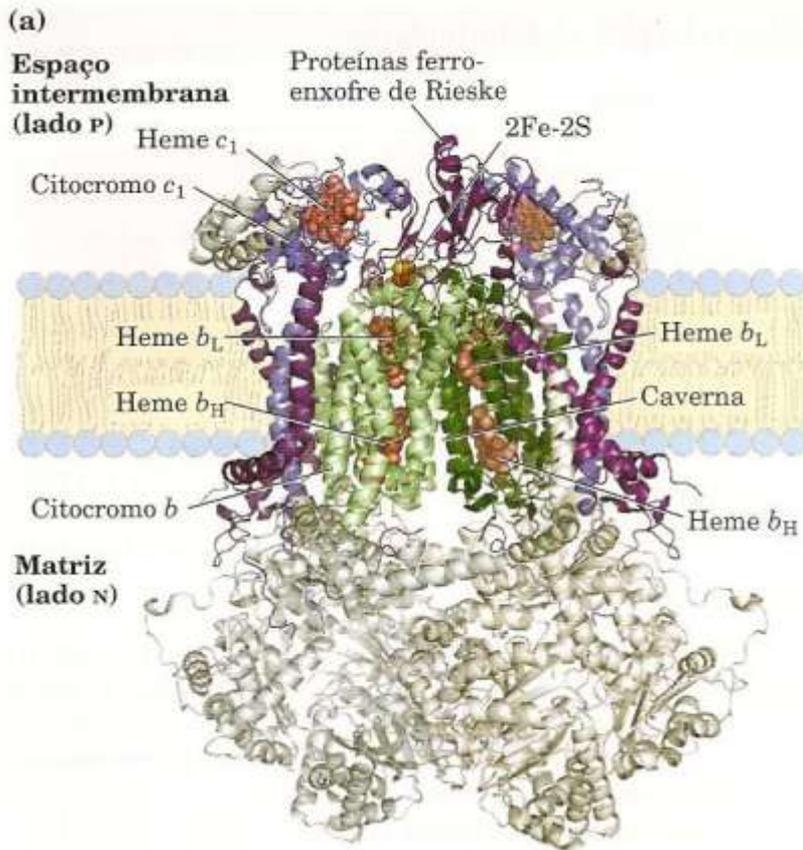
Heme b evita saída de e<sup>-</sup> do sistema através da formação de peróxido hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radical superóxido (·O<sub>2</sub><sup>-</sup>)

# Complexo III = complexo de Citocromo bc1 = ubiquinona: citocromo c-oxidorreductase

- Acopla transferência de elétrons do ubiquinol (QH<sub>2</sub>) p/ citocromo c
- Transporte vetorial de prótons da matriz p/ espaço intermembrana



- 2 unidades de citocromo b circundam um espaço na membrana na qual a ubiquinona move-se livremente entre matriz ( $Q_N$ ) e espaço intermembrana ( $Q_P$ ) a medida que lança elétrons e prótons através da MMI

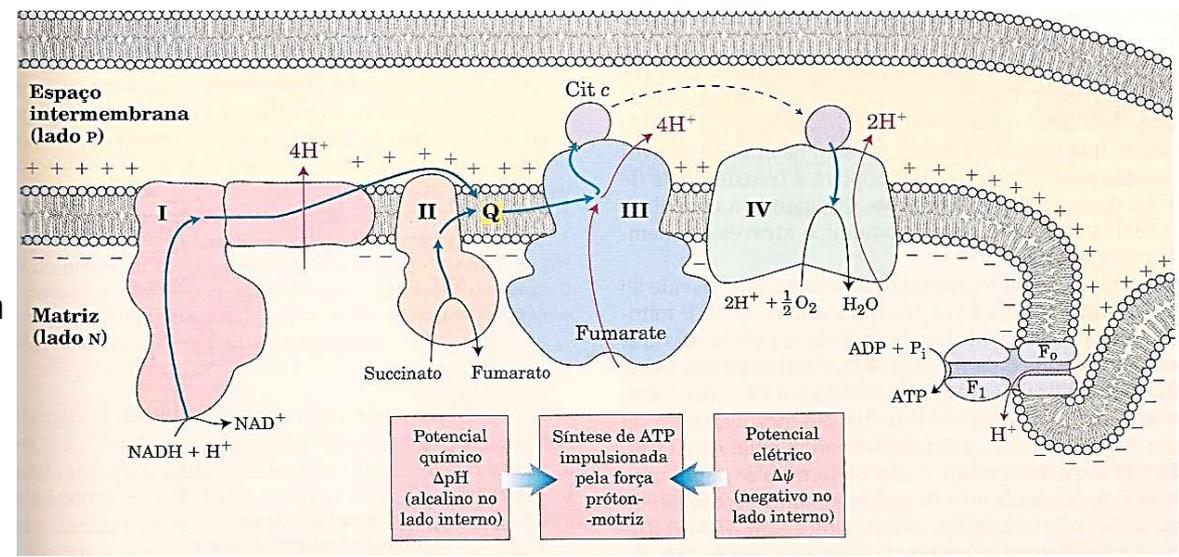
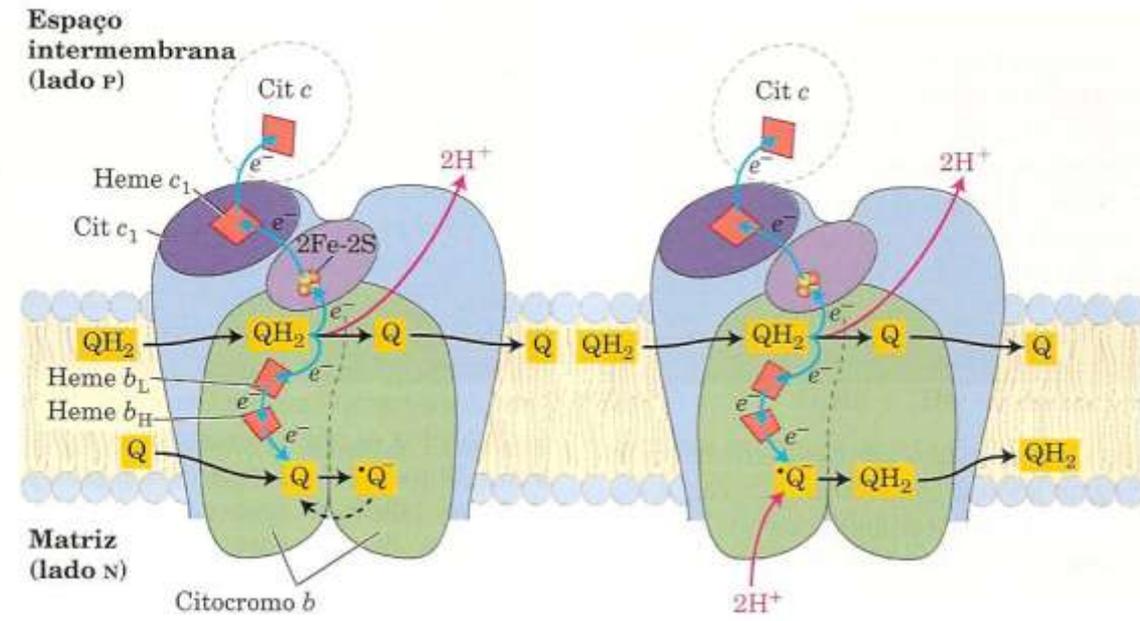


- 2 moléculas de ubiquinona reduzidas:  $QH_2$  (provenientes dos complexos I e II) transferem elétrons p/ complexo III p/ reduzir citocromos b e c1

- 1ª  $CoQH_2$ :
  - Transfere 1 elétron p/ proteína Fe-S, que transfere o é p/ citocromo c1 reduzindo-o
  - Libera 2 prótons no espaço intermembrana
  - Transfere 1 é p/ Q, produzindo  $CoQ^-$
  - $CoQ^-$  transfere é p/ citocromo b, reoxidando-se
  - $CoQ$  oxidada recebe novamente o é do citocromo b, reduzindo-se ( $CoQ^-$ )

- 2ª  $CoQH_2$ :
  - Repete-se etapas anteriores
  - $CoQ^-$  recebe o 2ª é, retira  $2H^+$  da matriz e produz  $CoQH_2$
  - Para cada 2  $CoQH_2$  que entram no ciclo Q, uma  $CoQH_2$  é regenerada

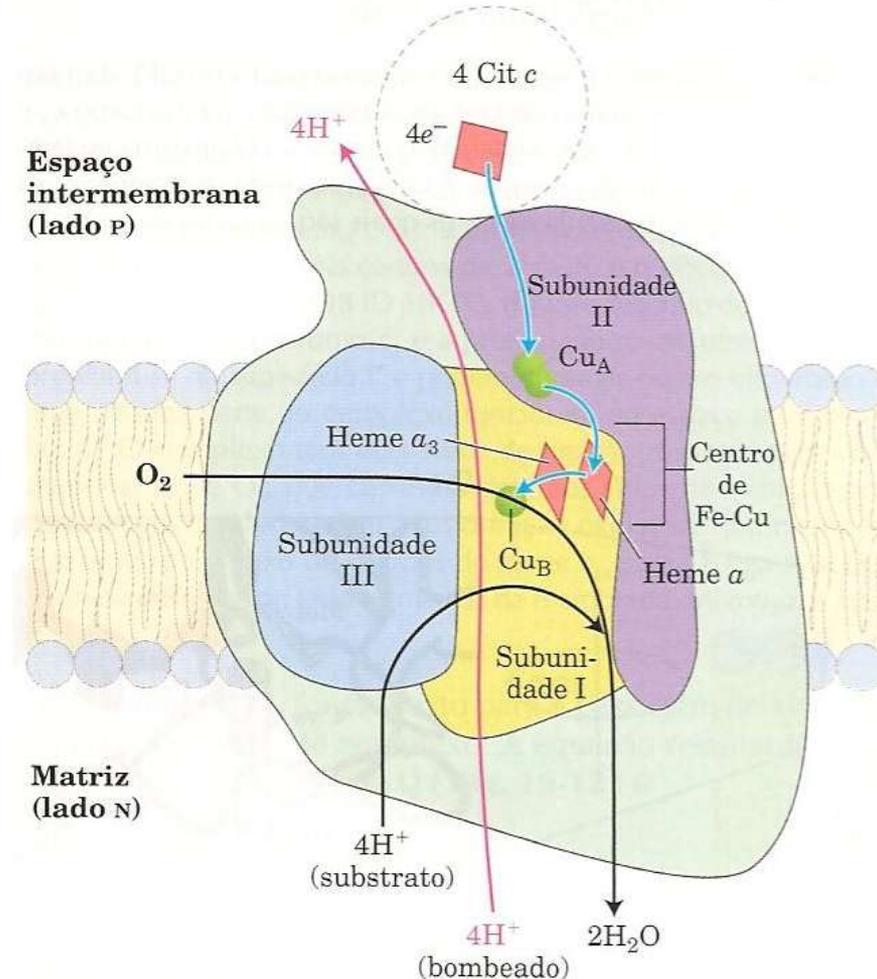
# Ciclo Q: (modelo proposto p/ passagem de é e prótons através do complexo III)



# Complexo IV = citocromo-oxidase

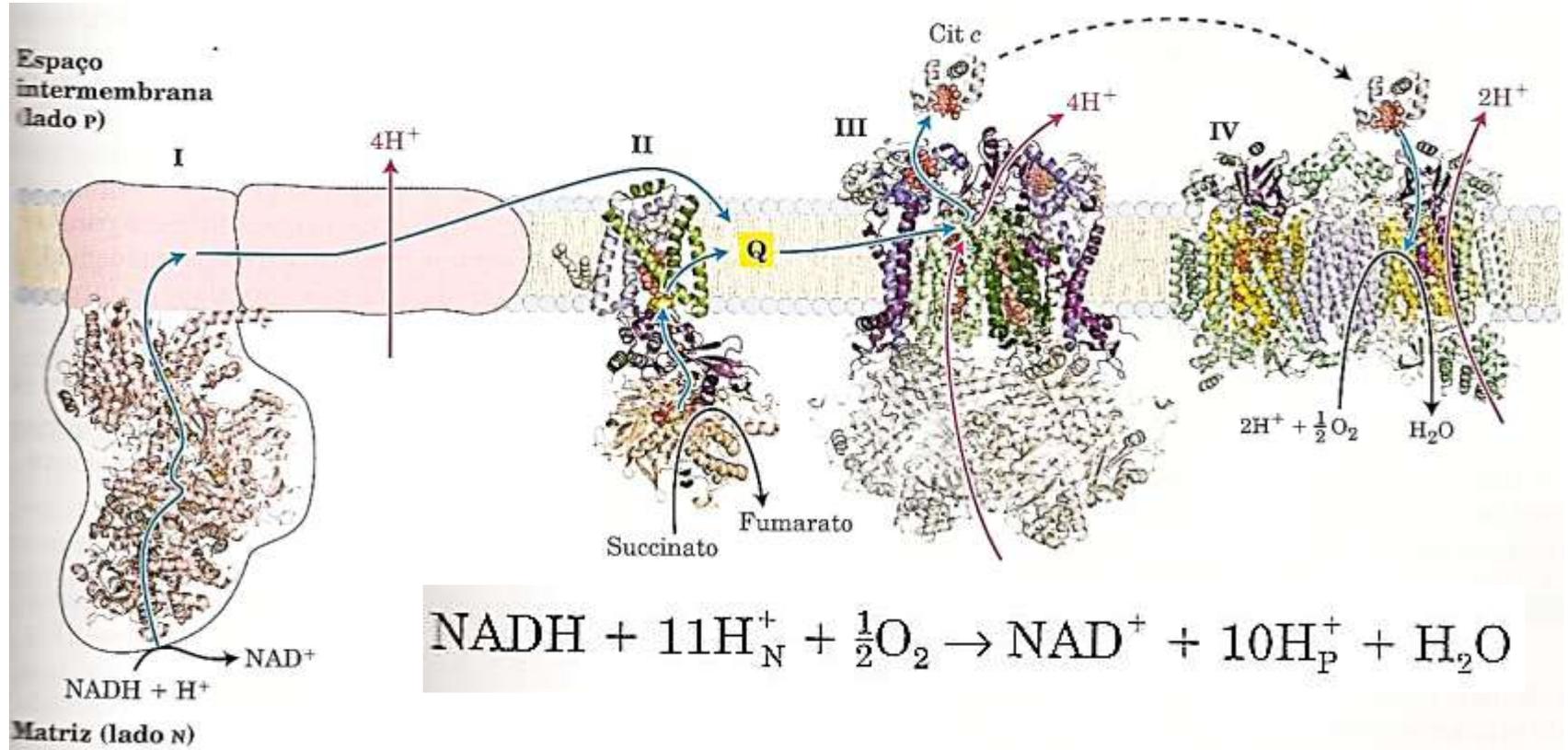
Transfere  $e^-$  do citocromo c p/ oxigênio molecular reduzindo-o a  $H_2O$

- A citocromo c oxidase catalisa oxidações de quatro moléculas de citocromo c (transfere 4  $e^-$  consecutivos e se reduz)
- Enzima catalisa concomitantemente a redução de uma molécula de  $O_2$  (aceptor de 4  $e^-$ )
- 4  $H^+$  são bombeados da matriz
- Produzindo 2  $H_2O$



p/ cada  $e^-$  transferido 1  $H^+$  é bombeado p/ o espaço intermembrana

A energia da transferência de elétrons é eficientemente conservada p/ bombear prótons p/ fora da matriz



- Força próton-motriz = energia armazenada no gradiente eletroquímico de prótons e na separação de cargas
  - Impulsiona síntese de ATP

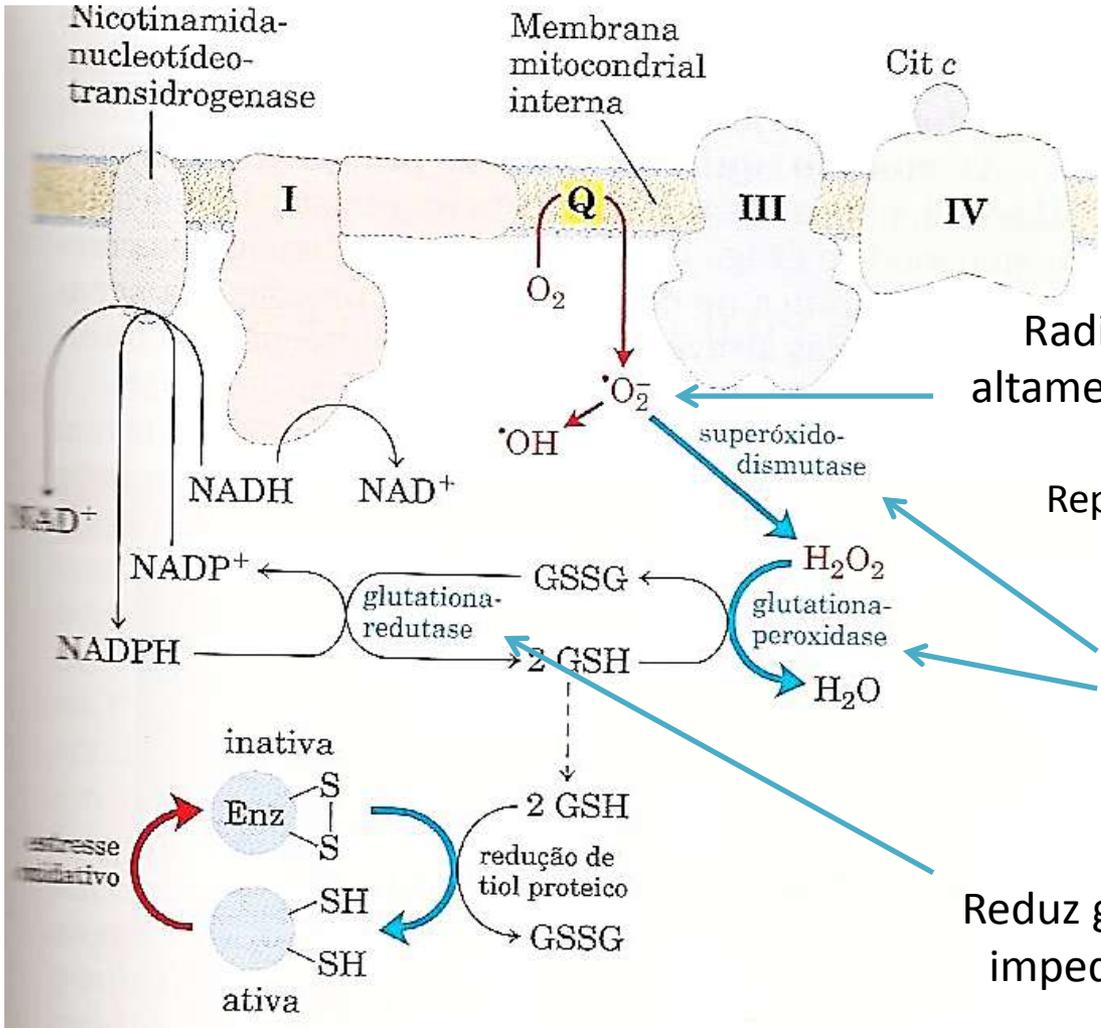
- Cada molécula de NADH que inicia a cadeia respiratória leva à formação de três moléculas de ATP a partir de três moléculas de ADP e três grupos fosfatos:



- Cada molécula de FADH<sub>2</sub> que entra na cadeia respiratória leva à formação de 2 ATPs:



# Espécies reativas de $O_2$ geradas na FO

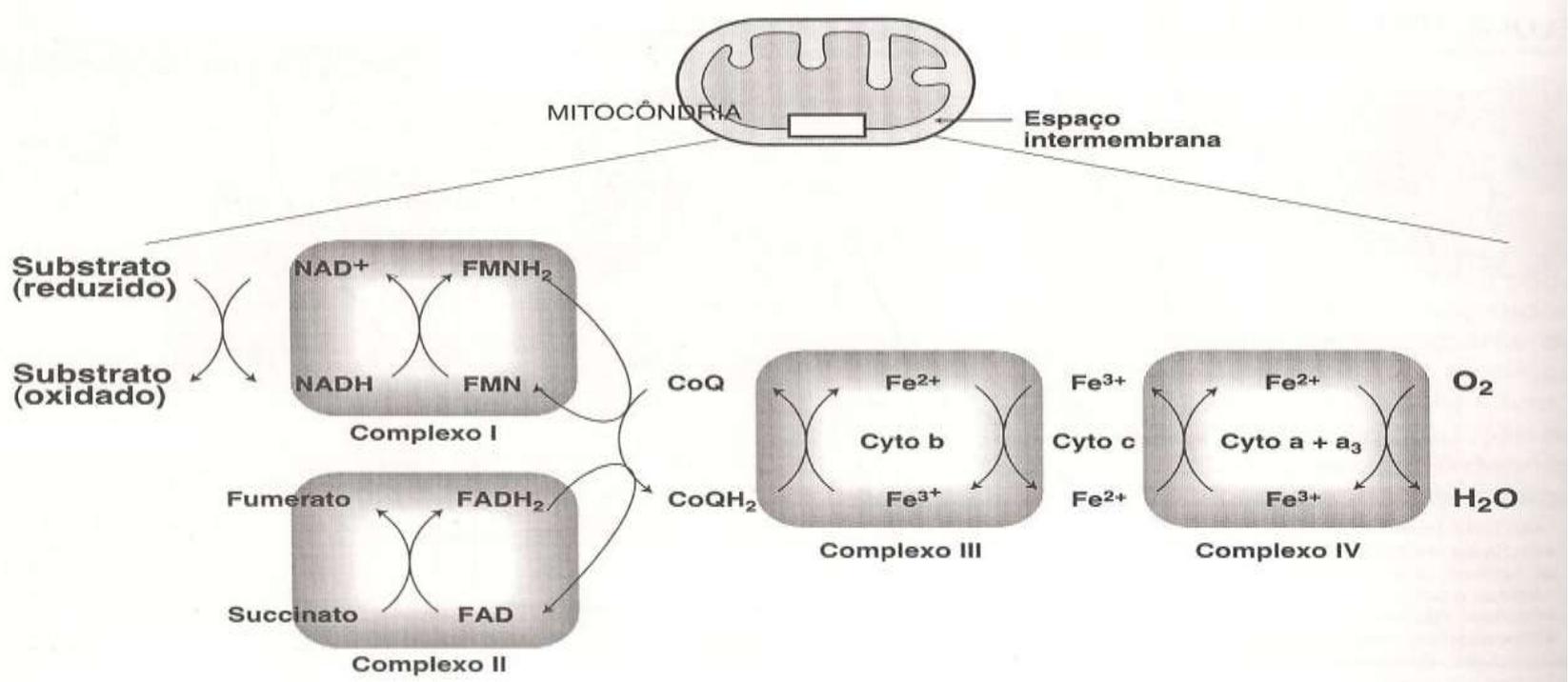


Radicais superóxido e hidroxil livres são altamente reativos (enzimas, lipídeos, ácidos nucleicos)

Representa de 0,1 a 4% do  $O_2$  utilizado na respiração

Impedem dano às células

Reduz grupos sulfidril de proteínas impedindo efeitos deletérios do estresse oxidativo



- Cada complexo aceita ou doa elétrons p/ transportadores móveis
- Ao final combina-se c/  $\text{O}_2$  e  $\text{H}^+$  formando  $\text{H}_2\text{O}$
- Necessidade de  $\text{O}_2$  torna o processo de transporte de é uma cadeia respiratória (maior parte da utilização de  $\text{O}_2$  pelo corpo)

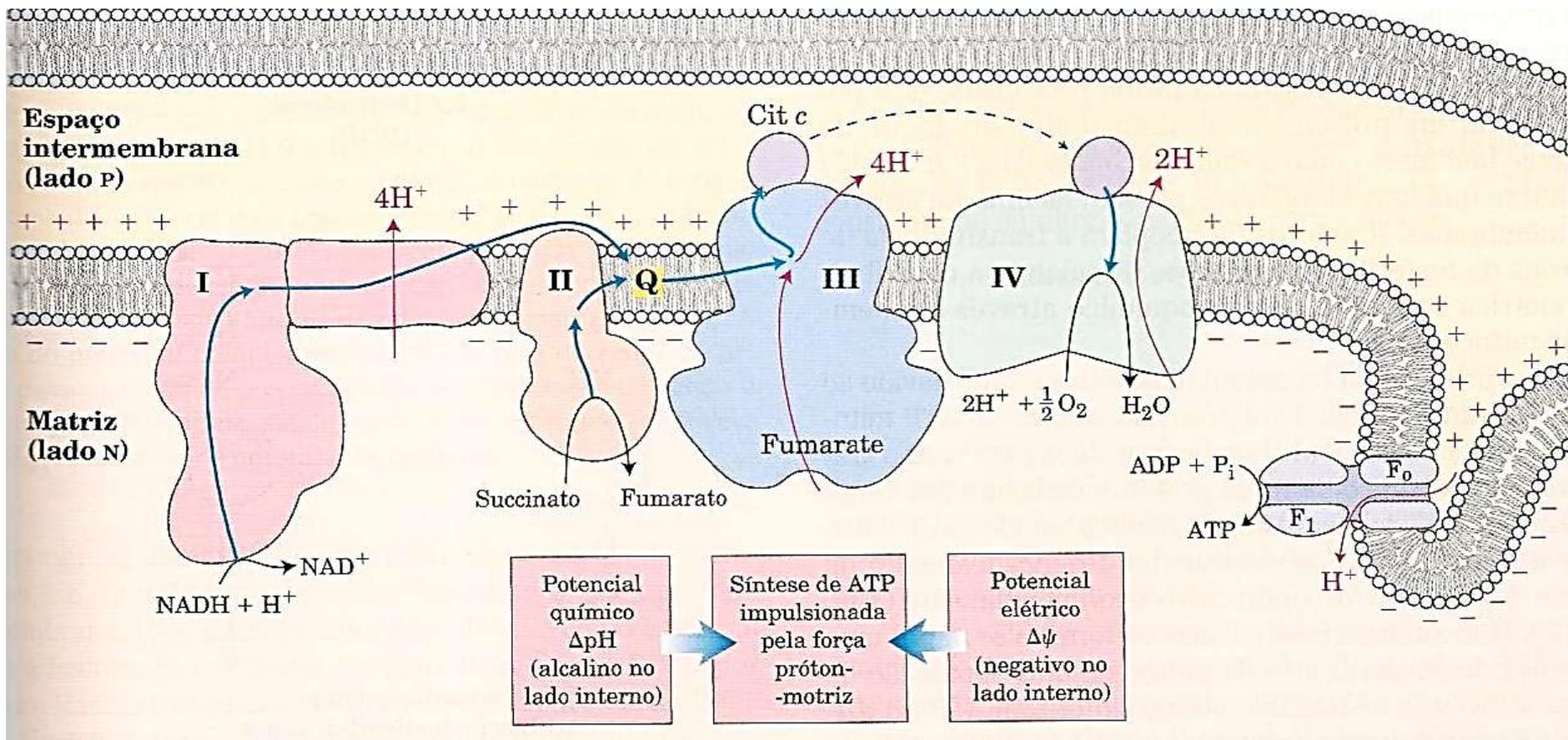
De que forma um gradiente de concentração de prótons se transforma em ATP?

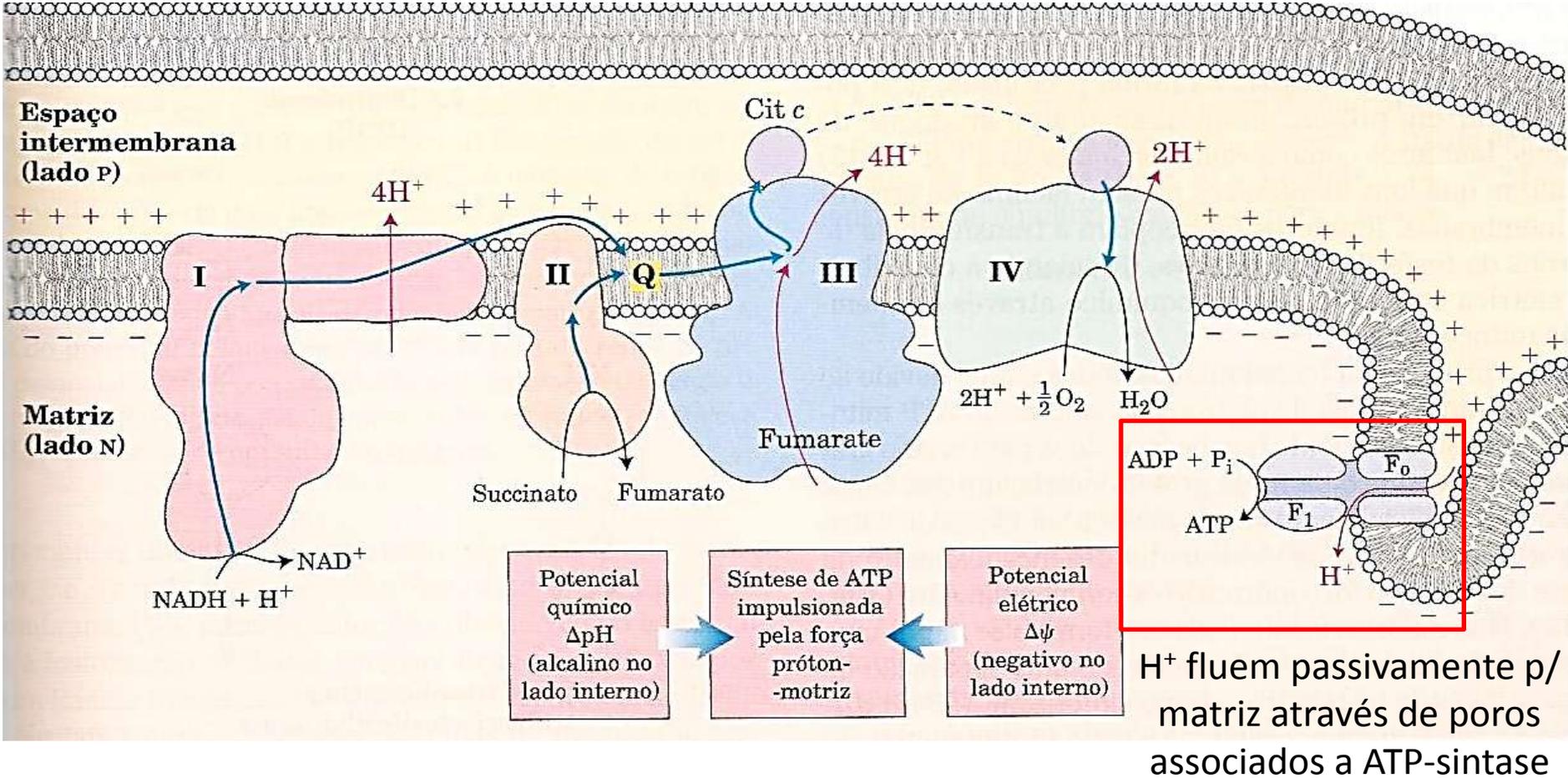
# A Teoria Quimiosmótica

O fluxo de elétrons através dos componentes da cadeia respiratória libera energia utilizada para bombear prótons  $H^+$  da matriz mitocondrial p/ o espaço intermembrana

Criação de gradiente eletroquímico de prótons (força próton-motriz conserva a energia)

O retorno destes  $H^+$  libera energia para a síntese de ATP

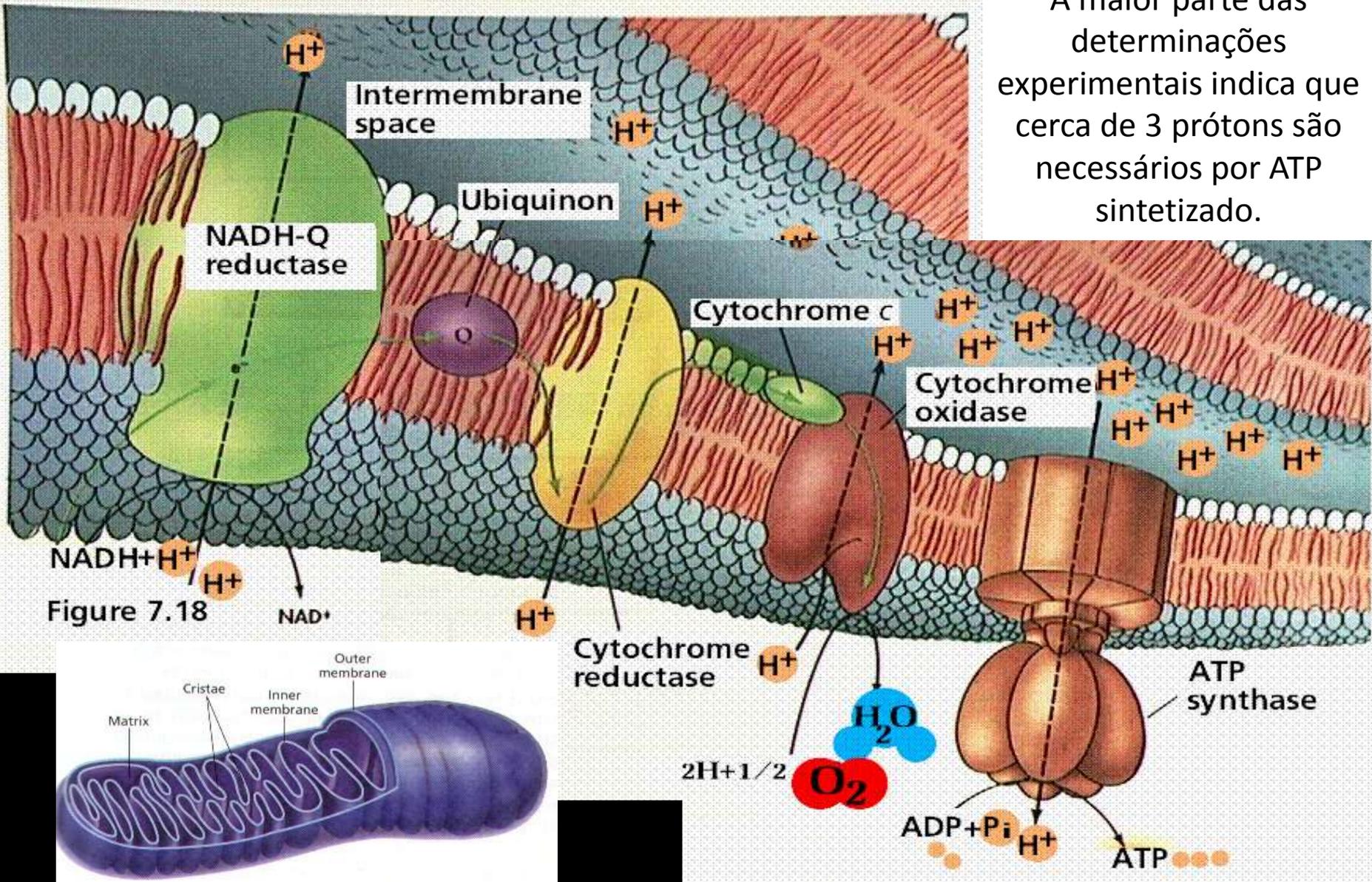




– Força próton-motriz conserva  $\cong 200\text{kJ/mol}$  por  $e^-$  p/ impulsionar a formação de 1 mol de ATP (50kJ)

- A energia livre do transporte de elétrons é conservada pelo bombeamento de  $H^+$  da matriz mitocondrial para o espaço intermembrana, criando um gradiente eletroquímico de  $H^+$  através da MMI. O potencial eletroquímico desse gradiente é aproveitado para a síntese de ATP

A maior parte das determinações experimentais indica que cerca de 3 prótons são necessários por ATP sintetizado.



Síntese de ATP é dependente da presença de substrato, ADP + Pi  
 Obrigatoriamente acoplada à transferência e<sup>-</sup>

# ATP-sintase ou $F_0F_1$ -ATPase

O componente  $F_0$  possui o canal de prótons  
componente  $F_1$  possui 3 subunidades  $\beta$  (catalisa a reação de síntese de ATP)

## Catálise rotacional

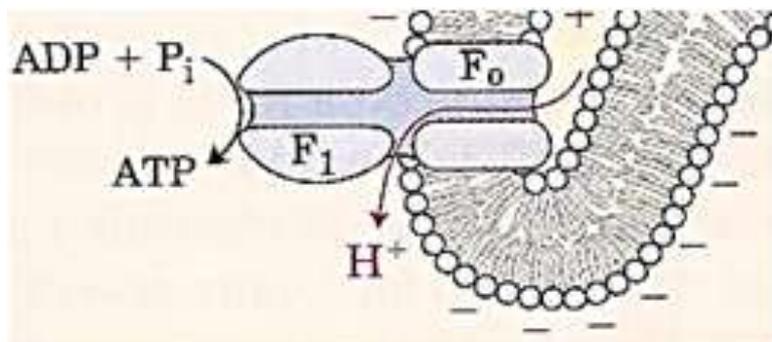
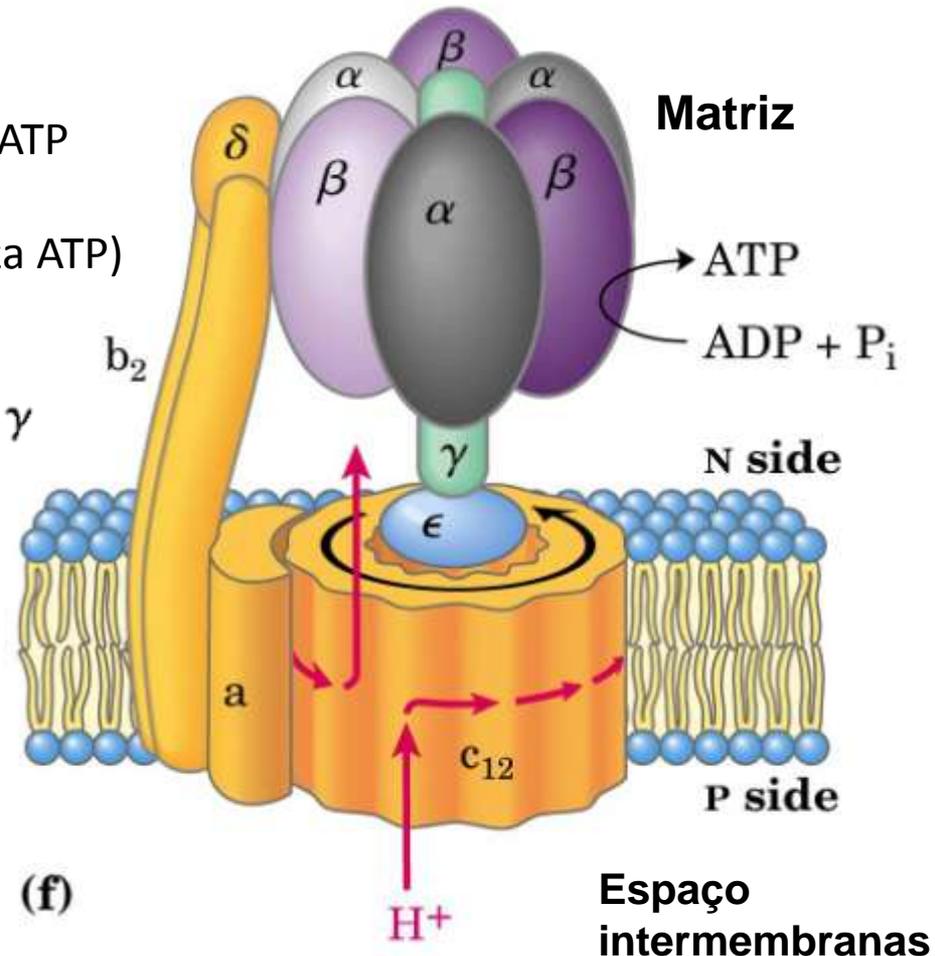
3 sítios ativos de  $f_1$  ( $\beta$ ) se revezam na síntese de ATP

1º) conformação  $\beta$ -ADP (liga ADP +  $P_i$ )

2º) conformação  $\beta$ -ATP (ligação firme estabiliza ATP)

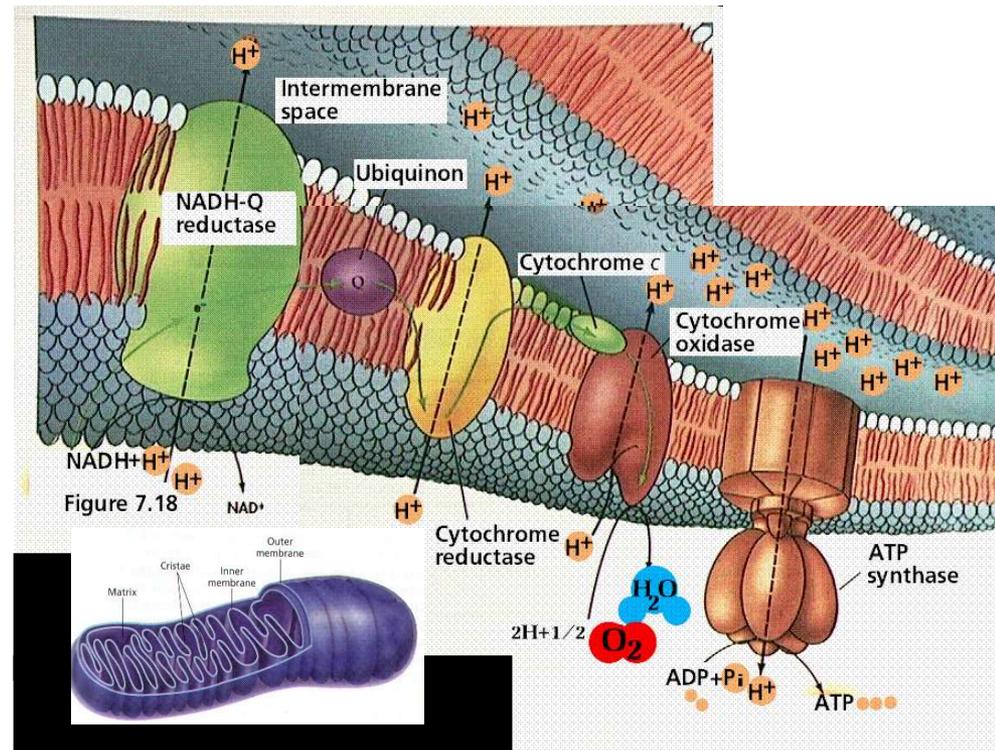
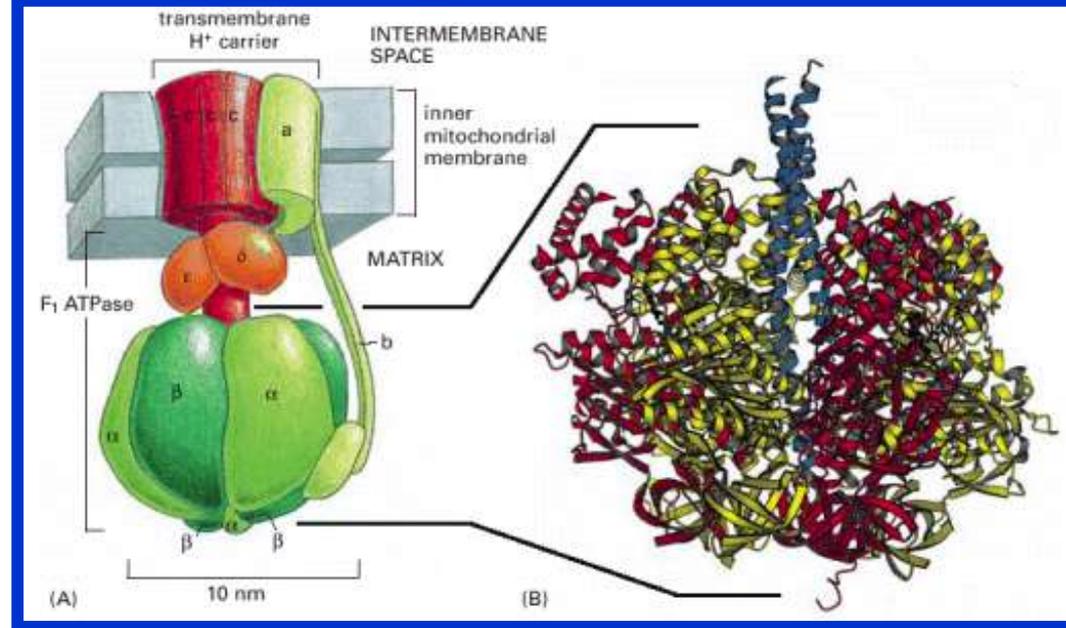
3º) conformação  $\beta$ -vazio (liberação do ATP)

A corrente de  $H^+$  induz rotação dos cilindros C e  $\gamma$  e consequente alternância nas conformações

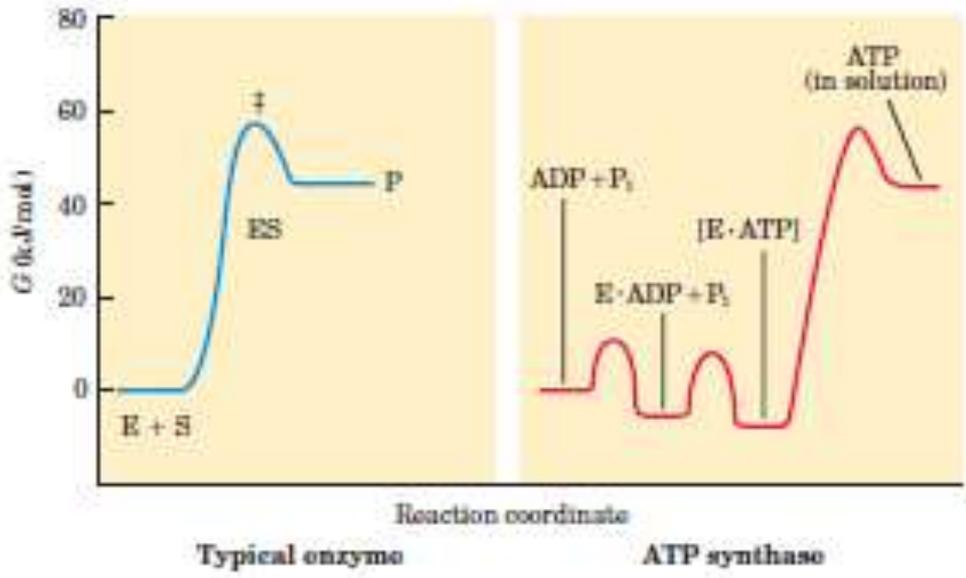


# ATP sintetase

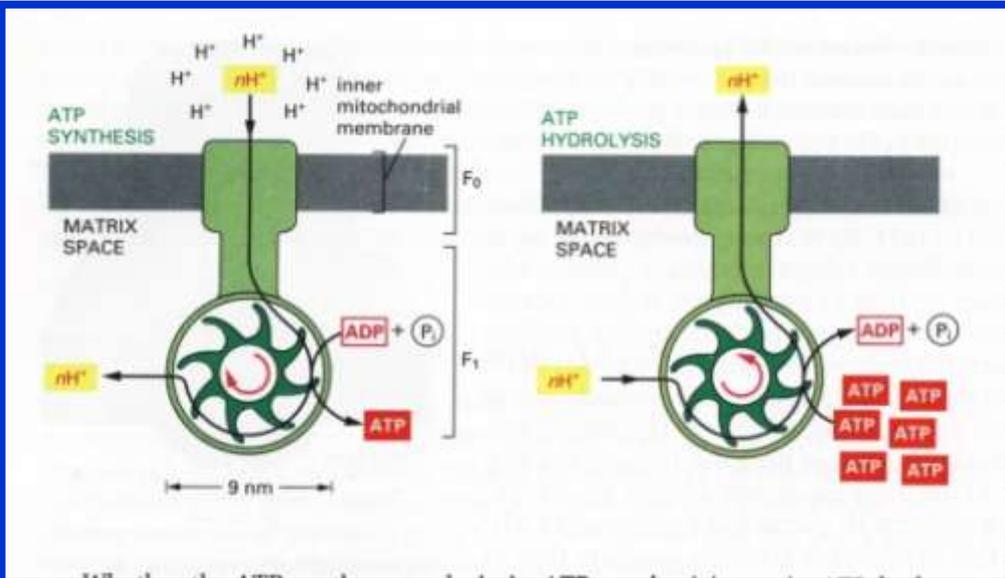
- A porção transmembrana ( $F_0$ ) funciona como um carreador de  $H^+$  p/ porção ( $F_1$ ) (voltada p/ matriz)
- ( $F_1$ ATPase) normalmente sintetiza ATP quando íons  $H^+$  passam por ela a favor de seu gradiente



- O gradiente eletroquímico de  $H^+$  regula a ação da ATP-sintase
- Gradiente  $H^+$  impulsiona liberação do ATP
  - (fornece energia livre p/ ultrapassar a energia de transição)



- A ATP sintase pode funcionar na direção contrária e consumir ATP e bombear  $H^+$

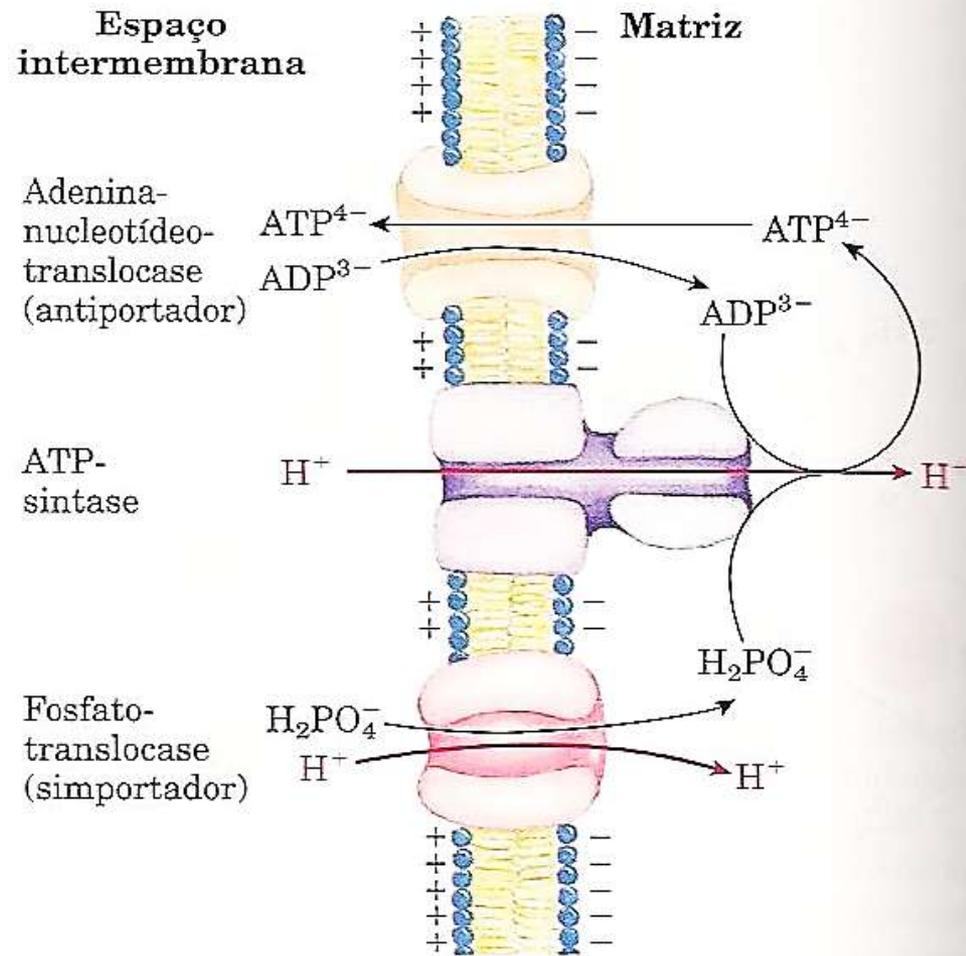


AATP sintetase é uma máquina acopladora reversível. *Molecular Biology of the Cell*, Fourth

# Sistemas de transporte: ATP-sintassomo

- Adenina-nucleotídeo-translocase move simultaneamente ADP p/ matriz e ATP p/ citosol
- Fosfato-translocase transporta fosfato diácido ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) e  $\text{H}^+$  p/ matriz

Favorecidos pelo gradiente eletroquímico transmembrana



# Fosforilação Oxidativa produz maior parte do ATP em células aeróbicas

**TABELA 19-5**

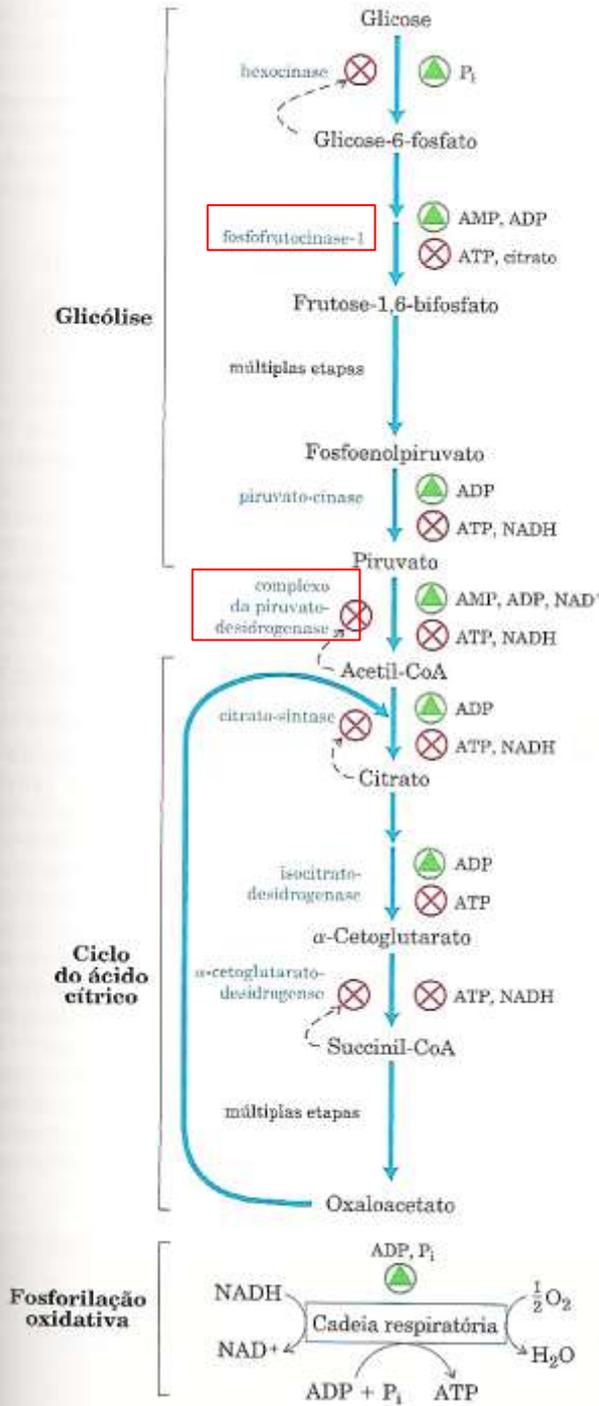
**Produção de ATP a partir da oxidação completa da glicose**

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 <sub>2</sub> 2 ATP ou 2 GTP	15 3 2
Produção total por glicose		30 ou 32

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

# Fosforilação Oxidativa é regulada pelas necessidades celulares de energia

- O ATP é formado exatamente tão rápido quanto é usado nas atividades celulares que requerem energia
- Razão ATP/ADP alta (sistema quase totalmente fosforilado)
  -  taxa de ADP induz  taxa de respiração
  - Velocidade de oxidação de combustíveis celulares é regulada c/ tal precisão que a razão ATP/ADP varia pouco na maioria dos tecidos, mesmo c/ variações extremas na demanda de energia

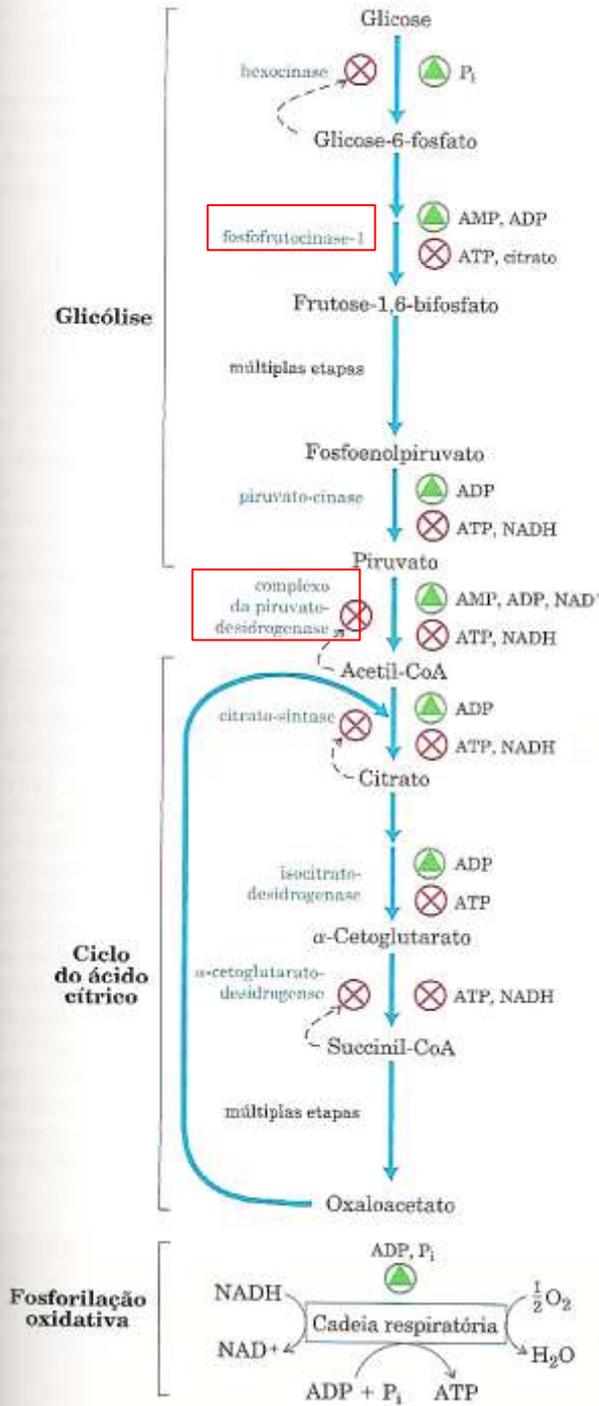


- **↑ Consumo de ATP**

- **↑ Fosforilação oxidativa**
- **↑ Oxidação do piruvato (simultâneo-ciclo krebs)**
- **↑ Possível da velocidade da glicólise**

- **↓ Concentração ADP / ↑ ATP**

- ATP inibe alostericamente fosfofrutoquinase 1 e piruvato-desidrogenase
- **↓ Fosforilação oxidativa**
- **↓ Ciclo de krebs**
- **↓ Glicólise**



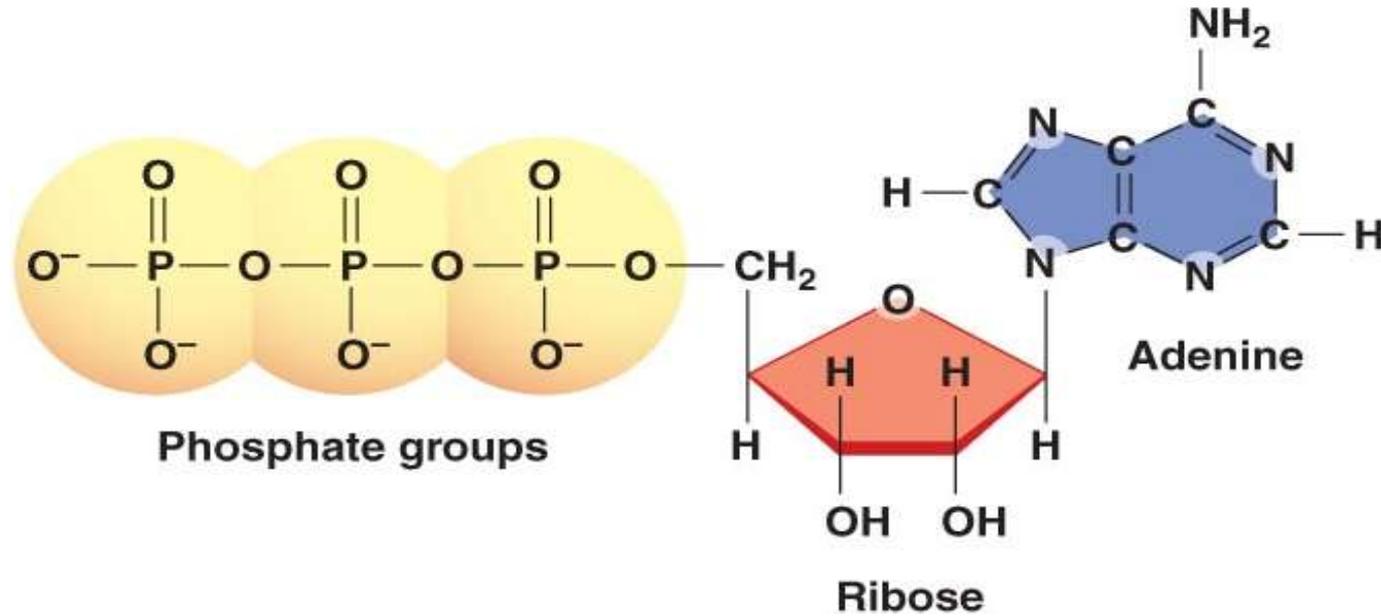
↑ Citrato ( ↓ ciclo de krebs)

– Inibição alostérica da fosfofrutoquinase 1

# Regulação da Fosforilação Oxidativa

- Inibidor proteico ( $IF_1$ ) inibe a respiração celular em condições de hipoxia (ataque cardíaco e acidente vascular)
  - Em hipoxia a glicólise é a fonte de ATP e o ácido pirúvico ou láctico ↓ pH do citosol ativando o  $IF_1$ , o qual, liga-se a ATP-sintase inibindo a FO

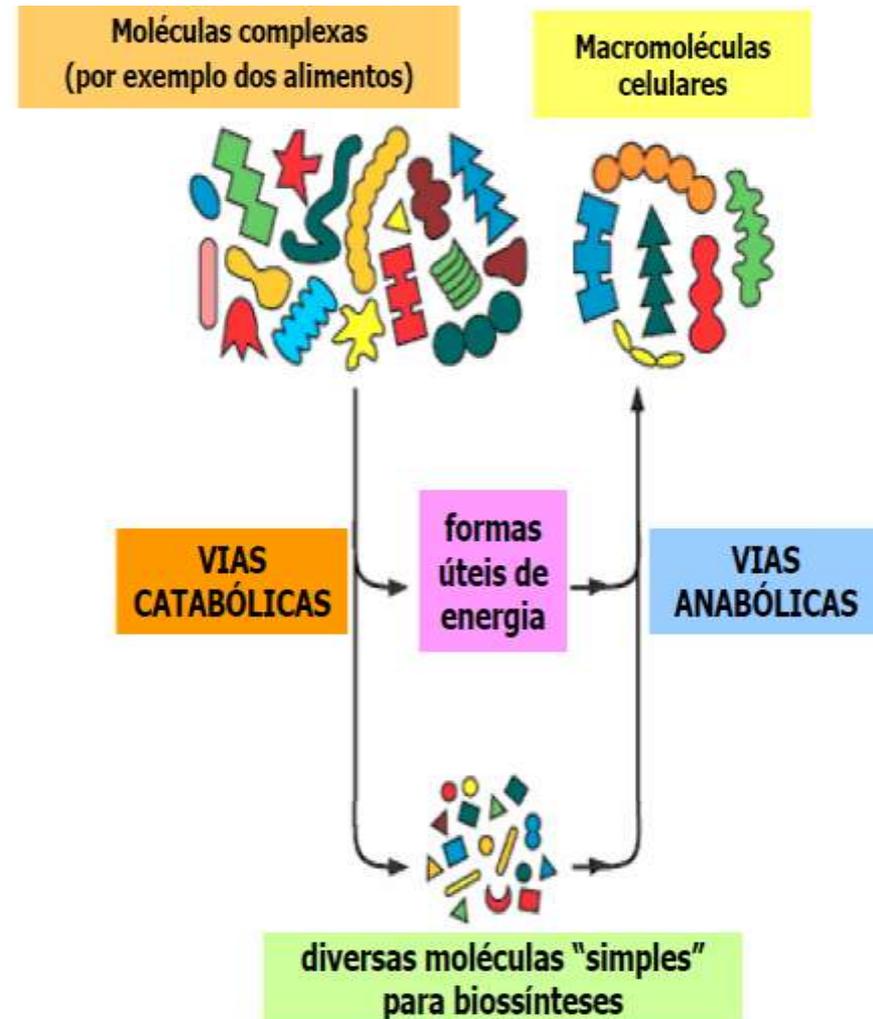
# ATP (Adenosina trifosfato)



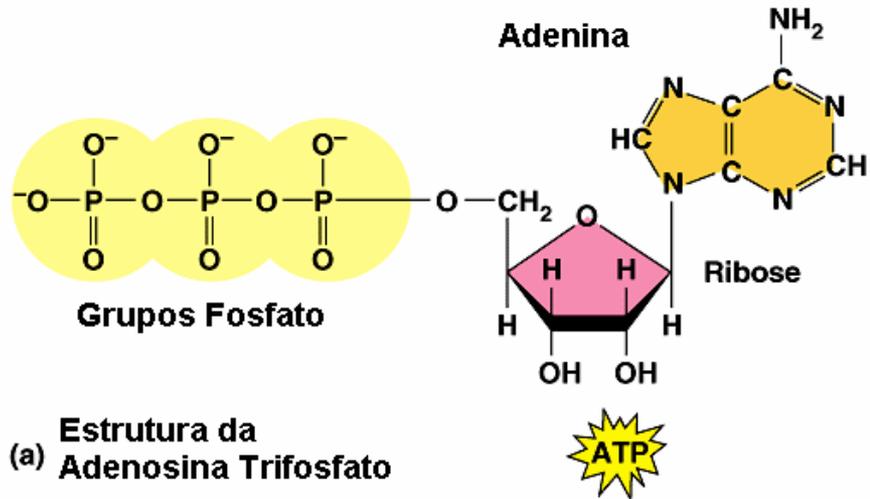
- Consiste em uma molécula de adenosina à qual 3 grupos fosfatos estão ligados
  - 1 fosfato removido, produz-se difosfato de adenosina (ADP)
  - 2 fosfatos removidos, produz-se monofosfato de adenosina (AMP)
- Grupos fosfatos determinam grande  $\Delta G^\circ$  negativa
  - Composto fosfato de alta energia

# ATP como intermediário na transferência de fosfato

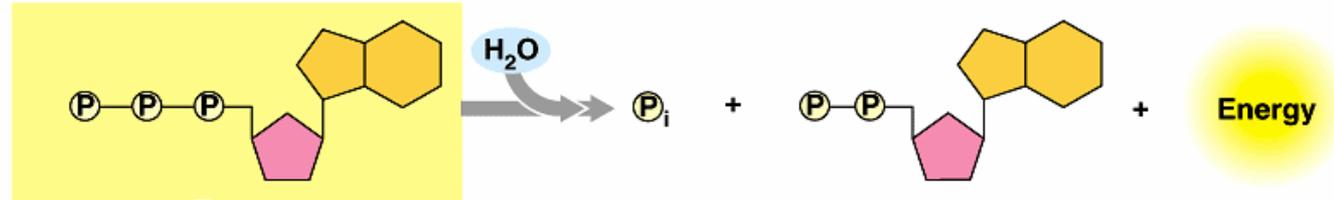
- Posição intermediária na escala bioenergética dos compostos fosfatados
- ADP funciona como acceptor de grupos fosfatos de compostos contendo fosfatos de alta energia p/ formar ATP, o qual doa fosfatos a compostos na célula p/ formar fosfatos de baixa energia
- Células não possuem enzimas p/ transferir grupos fosfatos diretamente de doadores de alta energia p/ aceptores de baixa energia sem serem primeiramente transferidos ao ATP



- As reações endergônicas são possíveis acoplando-se com processos exergônicos (hidrólise de ATP)
- Reações biológicas que requerem energia e que produzem energia compartilham um intermediário comum (ATP)



(a) Estrutura da Adenosina Trifosfato



Adenosina Trifosfato (ATP)      Fosfato Inorgânico      Adenosina Difosfato

(b) Hidrólise do ATP

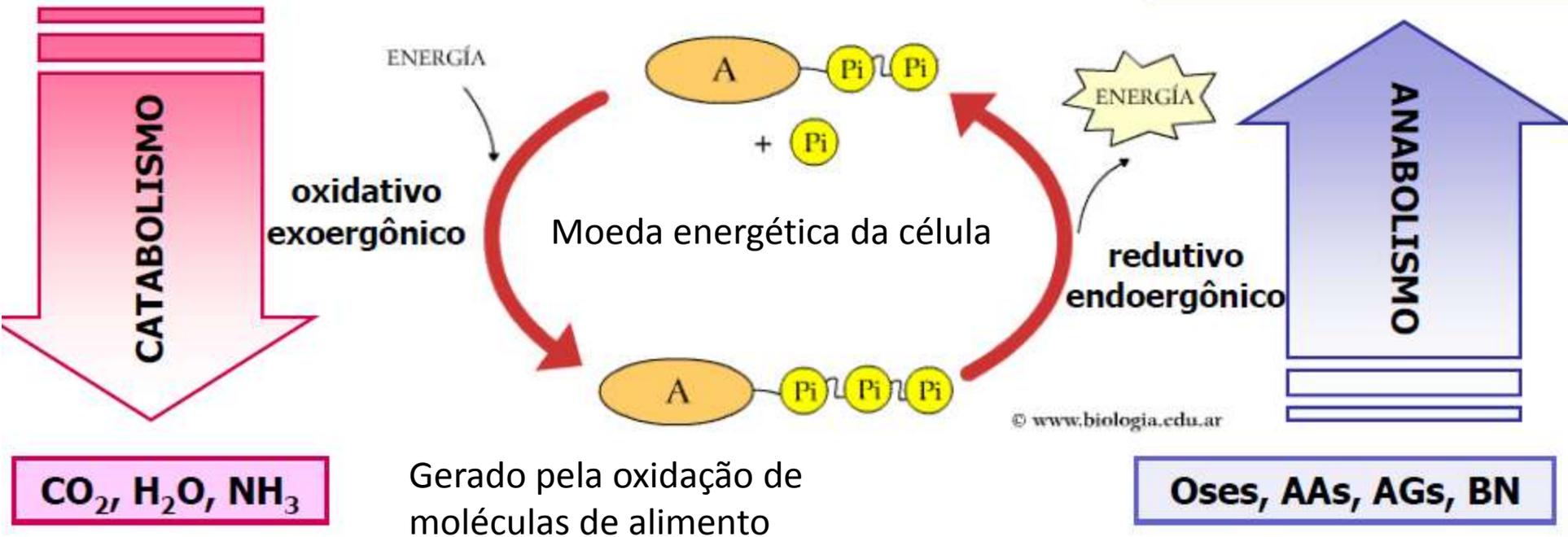
# ATP como transportador de energia

## 5 Acoplamento metabólico e energético

Transfere energia de processos catabólicos geradores de energia p/ reações anabólicas que requerem energia

CH, Lipídeos, Proteínas

Polissacarídeos, Lipídeos, Proteínas, Ácidos Nucléicos

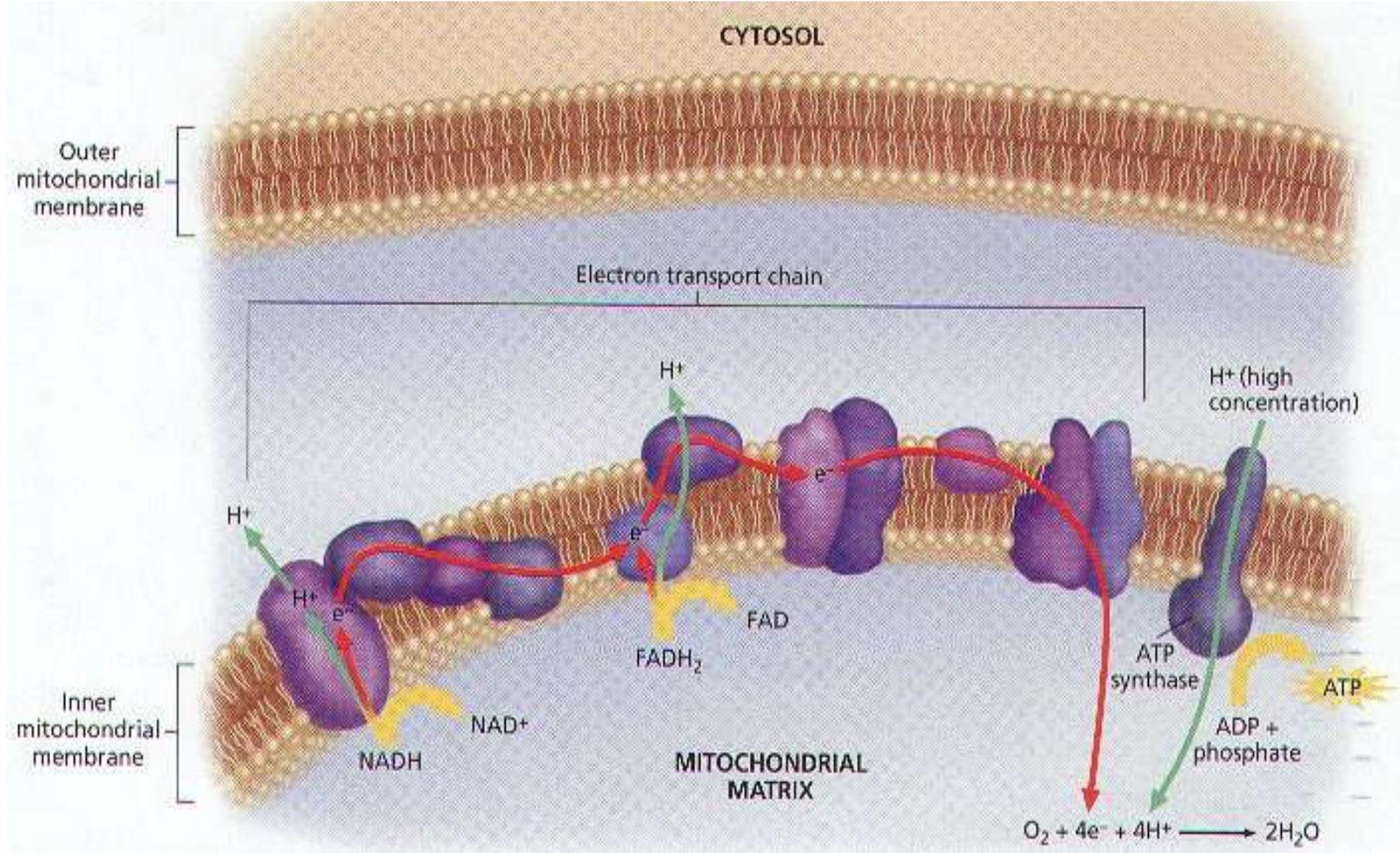


Gerado pela oxidação de moléculas de alimento

Oses, AAs, AGs, BN

**O ATP é o elo químico entre o catabolismo e o anabolismo**

# Cadeia Transportadora de Elétrons



Transporte de elétrons e a síntese de ATP pela fosforilação oxidativa segue continuamente em todas as células do corpo que contém mitocôndrias