

Cadeia Transportadora de Elétron

Profa. Alana Cecília

Transporte de Elétrons

O metabolismo aeróbio é um modo altamente eficiente para um organismo extrair energia a partir dos nutrientes.

Em células eucarióticas o processo aeróbio (incluindo a conversão do piruvato em acetil-CoA, o ciclo do ácido cítrico e o transporte de elétrons) ocorre totalmente na mitocôndria, enquanto o processo anaeróbio, a glicólise, ocorre no citosol.

A energia liberada pela oxidação de nutrientes é usada pelos organismos na forma de energia química do ATP. A produção do ATP na mitocôndria é o resultado da fosforilação oxidativa, na qual o ADP é fosforilado para fornecer ATP.

A produção de ATP por fosforilação oxidativa (um processo endergônico) é separada do transporte de elétrons para o oxigênio (um processo exergônico), porém as reações da cadeia transportadora de elétrons estão intimamente ligadas entre si e associadas à síntese de ATP pela fosforilação do ADP.

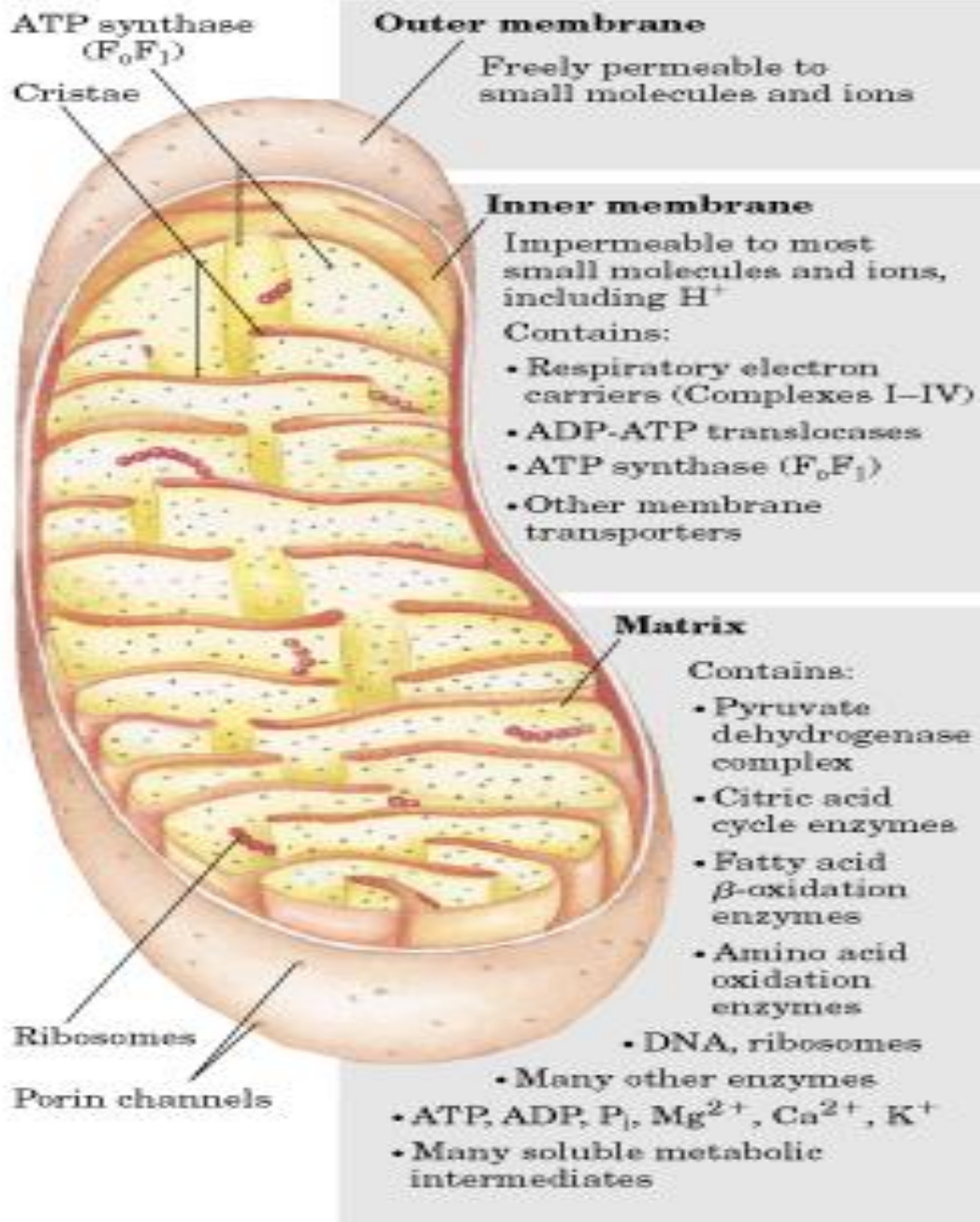
A operação da cadeia transportadora de elétrons leva ao bombeamento de prótons (íons hidrogênio) pela membrana mitocondrial interna, criando um gradiente de pH (também chamado de gradiente de prótons).

Esse gradiente representa energia potencial armazenada e fornece a base do mecanismo de acoplamento, que recebe o nome de acoplamento quimiosmótico.

A fosforilação oxidativa origina a maior parte da produção de ATP associada à oxidação completa da glicose.

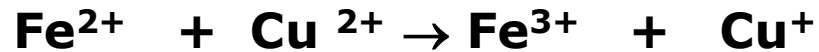
As moléculas de NADH e FADH₂ geradas na glicólise e no ciclo do ácido cítrico a como Cadeia Transportadora de Elétrons.

O oxigênio, o aceptor de elétrons final, é reduzido a água, completando, assim, o processo pelo qual a glicose é completamente oxidada a dióxido de carbono e água.



Transferência de Elétrons

1) Diretamente como elétrons



2) Como átomos de Hidrogênio



Doador de
Prótons ou e^{-}

Aceptor de Prótons

┌──────────┐
└──────────┘
Par de Redox Conjugado

3) Transferência como Íon Hidreto ($:\text{H}^{-}$)



4) De um Redutor Orgânico ao Oxigênio



Doador de e^{-}

Aceptor de e^{-}

Ex: Oxidação de um hidrocarboneto a álcool

INTERMEMBRANE SPACE

Inner membrane

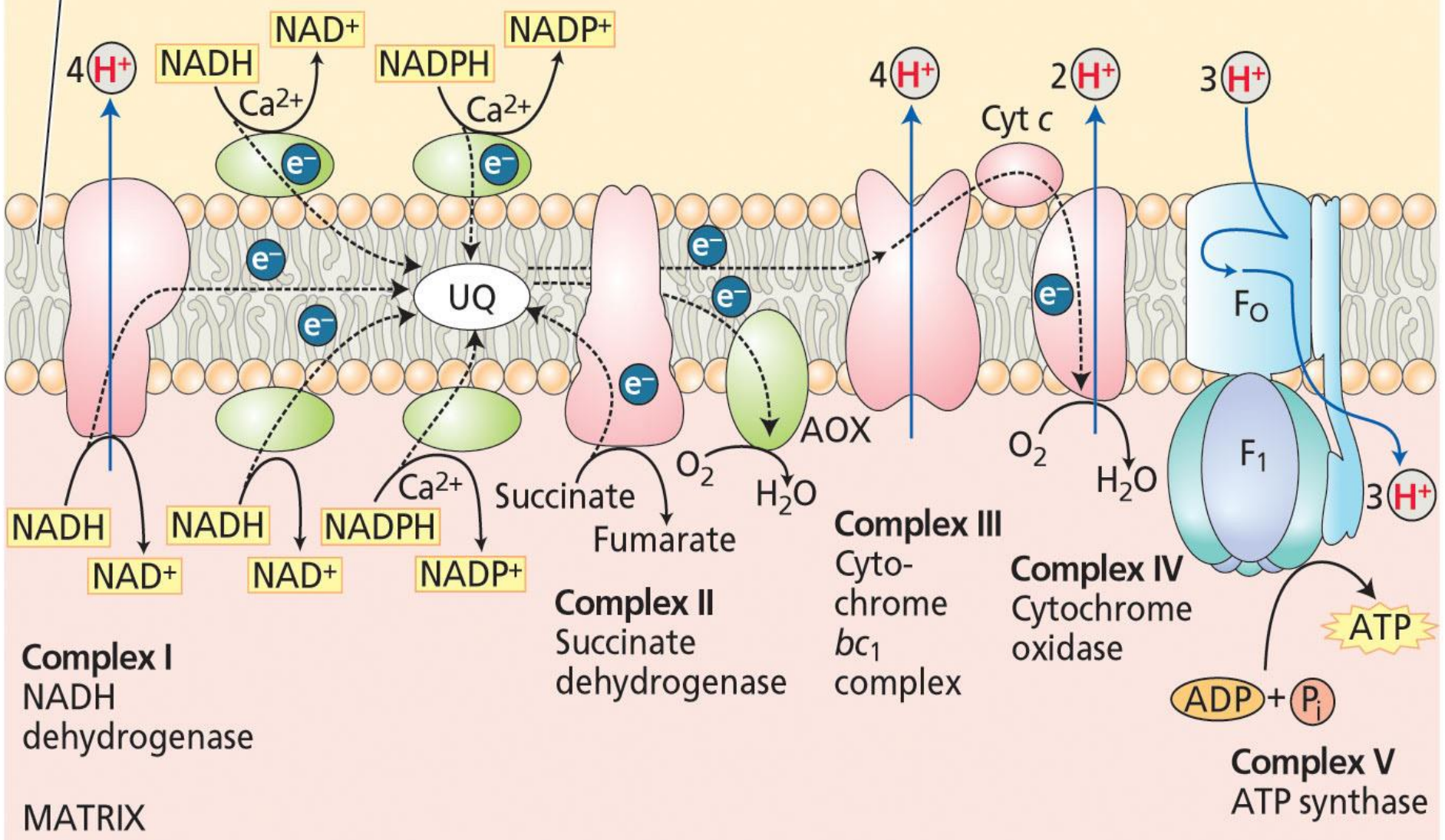


table 19-3

Protein Components of the Mitochondrial Electron-Transfer Chain

Enzyme complex	Mass (kDa)	Number of subunits*	Prosthetic group(s)
I NADH dehydrogenase	850	42 (14)	FMN, Fe-S
II Succinate dehydrogenase	140	5	FAD, Fe-S
III Ubiquinone: cytochrome <i>c</i> oxidoreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Cytochrome <i>c</i> [†]	13	1	Heme
IV Cytochrome oxidase	160	13 (3-4)	Hemes; Cu _A , Cu _B

*Numbers of subunits in the bacterial equivalents in parentheses.

[†]Cytochrome *c* is not part of an enzyme complex; it moves between Complexes III and IV as a freely soluble protein.

Como os Complexos de Transporte de Elétrons São Organizados?

Quatro complexos respiratórios separados são isolados da membrana mitocondrial interna. Tais complexos são sistemas multienzimáticos.

Complexo I: o primeiro complexo, o NADH-CoQ oxirredutase, catalisa as primeiras etapas do transporte de elétrons, a transferência de elétrons de NADH para a coenzima Q (CoQ). Ele é parte integral da membrana mitocondrial interna e inclui, entre outras subunidades, várias proteínas que contêm um centro ferro-enxofre e a flavoproteína que oxida o NADH.

A flavoproteína possui uma coenzima flavina, chamada flavina mononucleotídeo, ou FMN, que difere do FAD por não possuir uma adenina nucleotídeo.

A reação ocorre em várias etapas, com oxidação e redução sucessivas da flavoproteína e da porção ferro-enxofre.

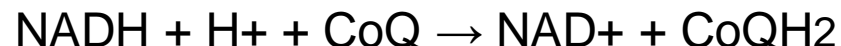
A primeira etapa é a transferência de elétrons do NADH para oxidação da flavina da flavoproteína.



Na segunda etapa, a flavoproteína reduzida é reoxidada, e a forma oxidada da proteína ferro-enxofre é reduzida. A proteína ferro-enxofre reduzida cede então seus elétrons para a coenzima Q que é reduzida a CoQH₂.

A coenzima Q também é chamada de ubiquinona.

A equação geral para a reação é:

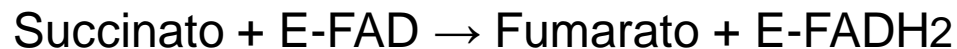


Essa reação é uma das responsáveis pelo bombeamento de prótons que gera o gradiente de pH (de prótons). É uma reação fortemente exergônica, liberando energia suficiente para acionar a fosforilação do ADP em ATP.

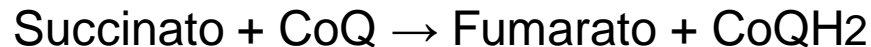
O receptor final de elétrons do complexo I, a coenzima Q é móvel, ou seja, é livre para se mover na membrana e transferir os elétrons que recebeu para o terceiro complexo e , subseqüentemente, até o oxigênio.

O segundo complexo também transfere elétrons de um substrato oxidável para a coenzima Q.

Complexo II: a succinato-CoQ oxidoredutase, também catalisa a transferência de elétrons para a CoQ. Contudo, sua fonte de elétrons (o substrato que está sendo oxidado) é o succinato, vindo do ciclo do ácido cítrico, que é oxidado a fumarato por uma flavoenzima.



A reação geral é:



Complexo III: a CoQH₂-citocromo c oxidorreductase (também chamada citocromo reductase), catalisa a oxidação da coenzima Q reduzida (CoQH₂). Os elétrons produzidos por essa reação de oxidação são transferidos para o citocromo c em um processo de múltiplas etapas.

A reação geral é:



O terceiro complexo é parte integrante da membrana mitocondrial interna. A coenzima Q é solúvel no componente lipídico da membrana mitocondrial, e separa-se do complexo no processo de fracionamento que divide a cadeia transportadora de elétrons em suas partes componentes, porém a coenzima provavelmente estará próxima aos complexos respiratórios na membrana intacta.

O cromossomo c em si não faz parte do complexo, mas está fracamente ligado à superfície externa da membrana mitocondrial interna, de frente para o espaço intermembranas.

Deve-se observar que esses dois importantes transportadores de elétrons, a coenzima Q e o citocromo c, não fazem parte do complexo respiratório, mas podem mover-se livremente na membrana.

Os complexos respiratórios propriamente ditos movem-se dentro da membrana, e o transporte de elétrons ocorre quando um complexo encontra o complexo seguinte na cadeia respiratória à medida que se deslocam.

O fluxo de elétrons da coenzima Q reduzida para os outros componentes do complexo não utiliza uma via simples e direta. O fluxo de elétrons é cíclico e envolve a coenzima Q duas vezes.

Esse comportamento depende do fato de que, como uma quinona, a coenzima Q pode existir em três formas. A forma semiquinona, que é intermediária entre as formas oxidada e reduzida, tem importância crucial. Em razão desse tipo de envolvimento, essa porção da via é chamada de ciclo Q.

A semiquinona, juntamente com as formas oxidada e reduzida da coenzima Q participa em um processo cíclico, no qual dois citocromos *b* são reduzidos e oxidados alternadamente.

Uma segunda molécula de coenzima Q está envolvida, transferindo um segundo elétron para o citocromo *c1* e de lá para o transportador móvel citocromo *c*. O resultado líquido é o mesmo que se uma molécula de CoQ tivesse perdido dois elétrons.

O bombeamento de prótons, ao qual a produção de ATP está associada, ocorre como resultado das reações desse complexo.

Complexo IV: a citocromo c oxidase, catalisa as etapas finais do transporte de elétrons, a transferência de elétrons do citocromo c para o oxigênio.

A equação geral é :



O bombeamento de prótons também ocorre como resultado dessa reação.

Como nos outros complexos respiratórios, a citocromo-oxidase é parte integrante da membrana mitocondrial interna e contém os citocromos *a* e *a*₃, assim como dois íons Cu²⁺ envolvidos no transporte de elétrons.

Componentes da Cadeia de Transporte de Elétons

NADH (- 0,32 v)

Complexo - I → (NADH - Ubiquinona oxiredutase)
(NADH - desidrogenase)

FMN

Fe-S

(+ 0,04 v) Q

Complexo - II
(Succinato - Desidrogenase)

Fe - S ← FADH₂

Complexo - III → (Ubiquinol - citocromo c oxiredutase)

Cit b 562 (+ 0,07 v)

Cit b 566

Cit c1 (+ 0,22 v)

Cit c (+ 0,25 v)

Complexo - IV → (Citocromo oxidase)

Cit a

Cit a3 (+ 0,55 v)

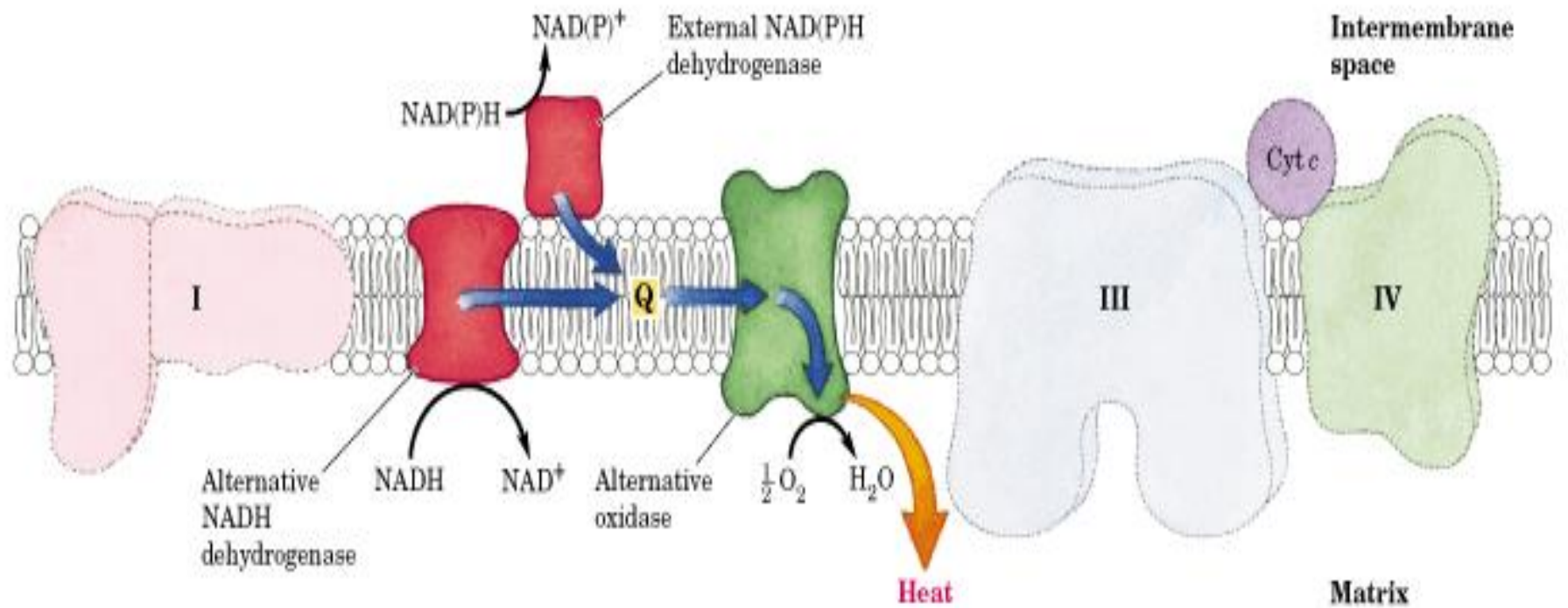
Cu²⁺

(+0,82 v) ½ O₂ → H₂O

table 19-2

Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

Redox reaction (half-reaction)	E'° (V)
$2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^{+} + \text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^{+} + \text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2\text{)}$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.55
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2\text{e}^{-} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816



Hipóteses para a Formação do ATP

1) Hipótese do Acoplamento Químico

- Intermediário Rico em Energia
- Síntese de ATP

2) Acoplamento Conformacional

- Modificação Conformacional dos Componentes da Cadeia de Transporte de Elétron

3) Hipótese Quimiosmótica

- Transporte de Íons H^+ da matriz para o espaço Intramembranar
- Bombeamento de Prótons → Formação de um Gradiente Eletroquímico de Prótons



$$\Delta\mu_{H^+}$$

$$\Delta\mu_{H^+} = \Delta E_m - \Delta pH$$

ΔE_m = Potencial Elétrico da Membrana
(Negativo na Matriz)

ΔpH = Potencial Químico
(Positivo no Espaço Intermembranar)

Acoplamento Quimiosmótico

O acoplamento quimiosmótico está embasado na diferença de concentração de prótons entre o espaço intermembranas e a matriz de uma mitocôndria em respiração ativa.

Em outras palavras , o gradiente de prótons por meio da membrana mitocondrial interna é o X da questão.

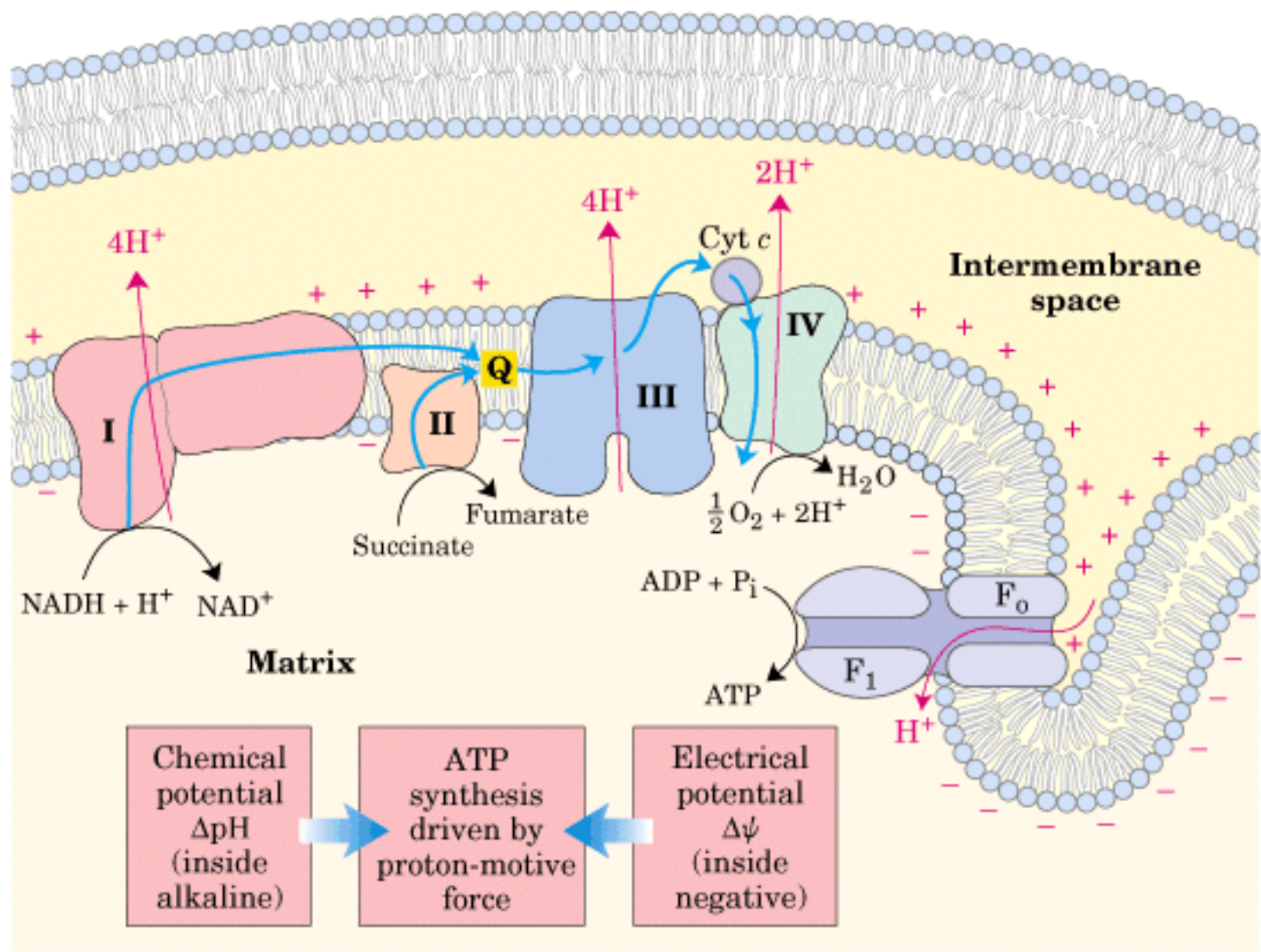
O modo como o gradiente de prótons leva a produção de ATP depende dos canais de íons presentes na membrana mitocondrial interna; esses canais são uma característica da estrutura da ATP sintase. Os prótons fluem de volta para a matriz pelos canais de íons na ATP sintase; a porção F₀ da proteína é o canal de prótons. O fluxo de prótons é acompanhado pela formação de ATP que ocorre na unidade F₁.

A característica marcante do acoplamento quimiosmótico é a ligação direta do gradiente de prótons com a reação de fosforilação.

O dinitrofenol é um ácido, sua base conjugada, o ânion dinitrofenolato, é o verdadeiro desacoplador, uma vez que pode reagir com prótons no espaço intermembranas, reduzindo a diferença na concentração de prótons entre os dois lados da membrana mitocondrial interna.

Os antibióticos desacopladores, como a gramicidina A e a valinomicina, são ionóforos, criando um canal pelo qual íons como H^+ , K^+ e Na^+ podem atravessar a membrana.

O gradiente de prótons é anulado, levando ao desacoplamento da oxidação e da fosforilação.



Aspectos Conformacionais do Acoplamento

No acoplamento conformacional, o gradiente de prótons está indiretamente relacionado a produção de ATP.

O gradiente de prótons leva a alterações conformacionais em diversas proteínas, particularmente na própria ATP sintase.

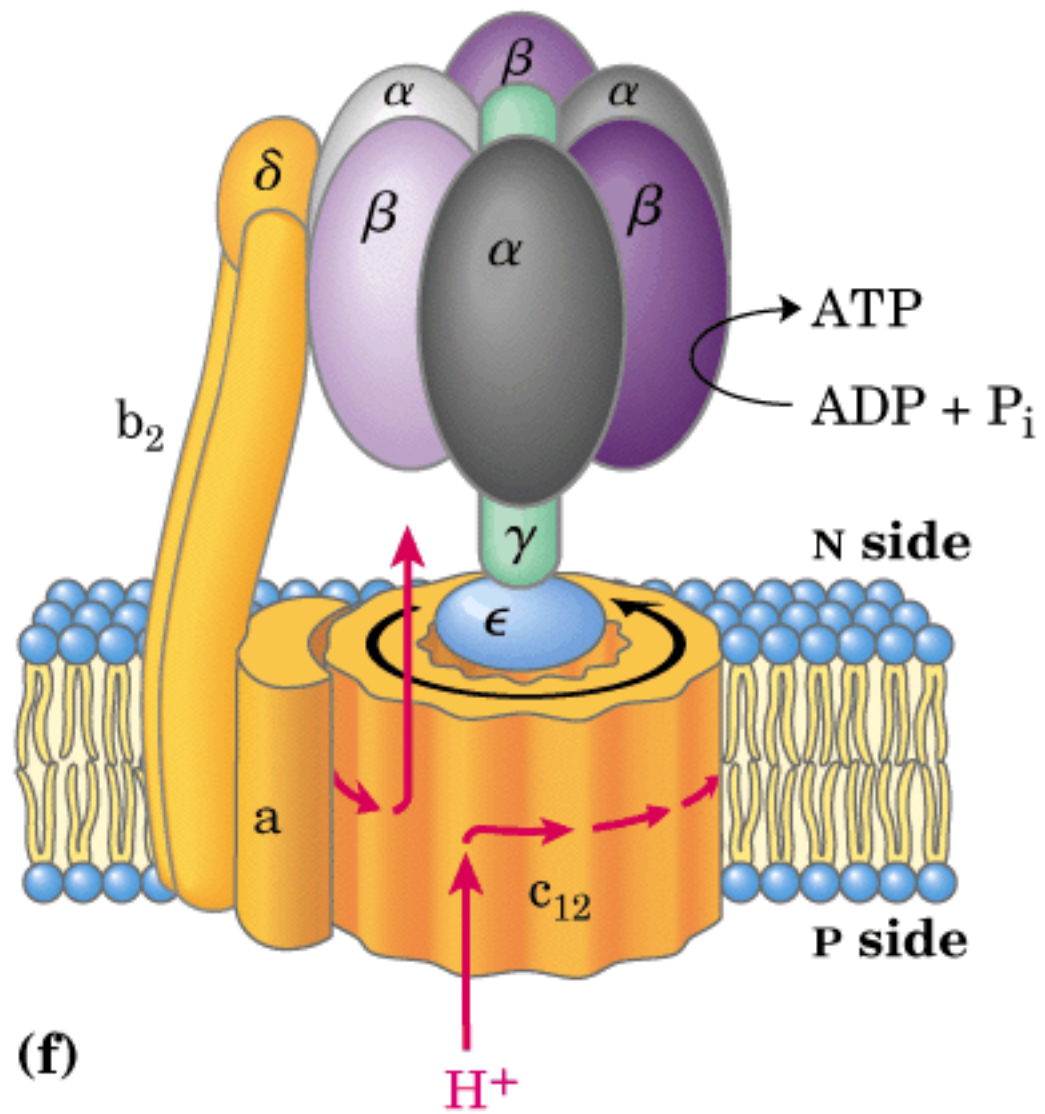
O gradiente de prótons está envolvido na liberação de ATP firmemente ligado à sintase como resultado de uma alteração conformacional.

Há três sítios para o substrato na sintase e três possíveis estados conformacionais: o aberto (O), com baixa afinidade para o substrato; a ligação fraca (L), que não é cataliticamente ativa; e a ligação forte (T), que é cataliticamente ativa.

Em determinado momento, cada um desses sítios está em um desses três estados conformacionais diferentes. Esses estados são interconvertíveis como resultado do fluxo de prótons pela sintase.

O ATP já formado pela sintase é ligado a um sítio na conformação T, enquanto o ADP e o Pi ligam-se a um sítio na conformação L. O fluxo de prótons converte o sítio na conformação T para conformação O, liberando o ATP.

O sítio no qual o ADP e o Pi estão ligados assume a conformação T, que pode então, originar o ATP.

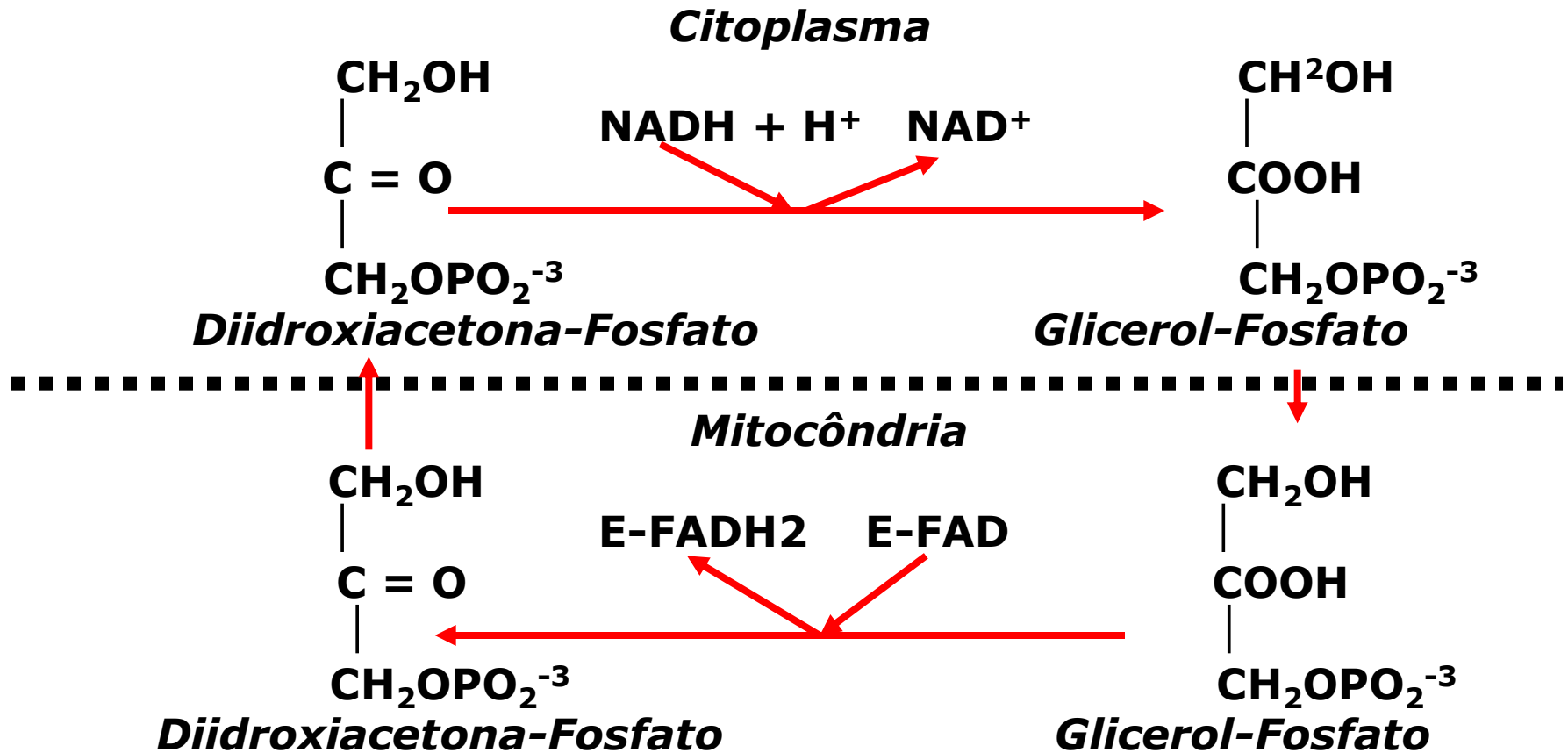


Circuitos de Transporte

Circuito Glicerol-Fosfato: usa uma enzima dependente de FAD presente na face externa da membrana mitocondrial interna que oxida o glicerol fosfato.

O glicerol-fosfato é produzido pela redução da diidroxicetona fosfato e NADH é oxidado a NAD⁺. Nessa reação o agente oxidante que também é reduzido é o FAD, e o produto é o FADH₂ que passa então os elétrons pela cadeia transportadora de elétrons, levando a produção de 1,5 mol de ATP.

Lançadeira Glicerol-Fosfato



Ocorrência: **Músculo Esquelético e Cérebro**

Circuito Malato-Aspartato: detectado no rim, no fígado e no coração de mamíferos. Se baseia no fato de que o malato pode atravessar a membrana mitocondrial enquanto o oxalacetato não pode.

O ponto interessante é que sobre tal circuito é que a transferência de elétrons do NADH no citosol produz NADH na mitocôndria.

Com o circuito malato aspartato, 2,5 moles de ATP são produzidos para cada mol de NADH citosólico em vez de 1,5 mol de ATP no circuito glicérol fosfato, que utiliza o FADH₂ como transportador.

Lançadeira Malato-Aspartato

Citossol

Matriz

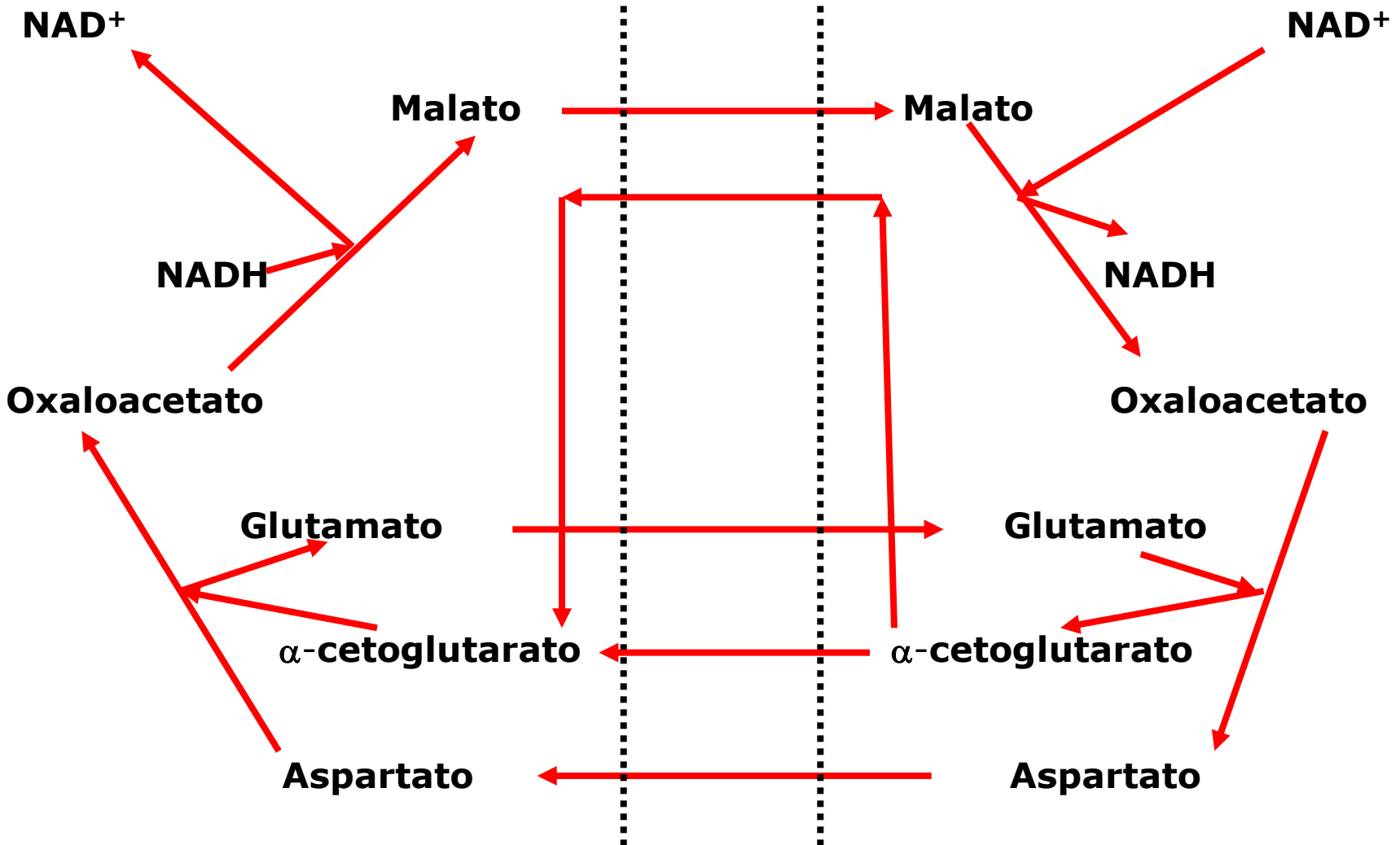


table 19-5

ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose

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 mitochondria.

Sítios de Ação de Inibidores Respiratórios

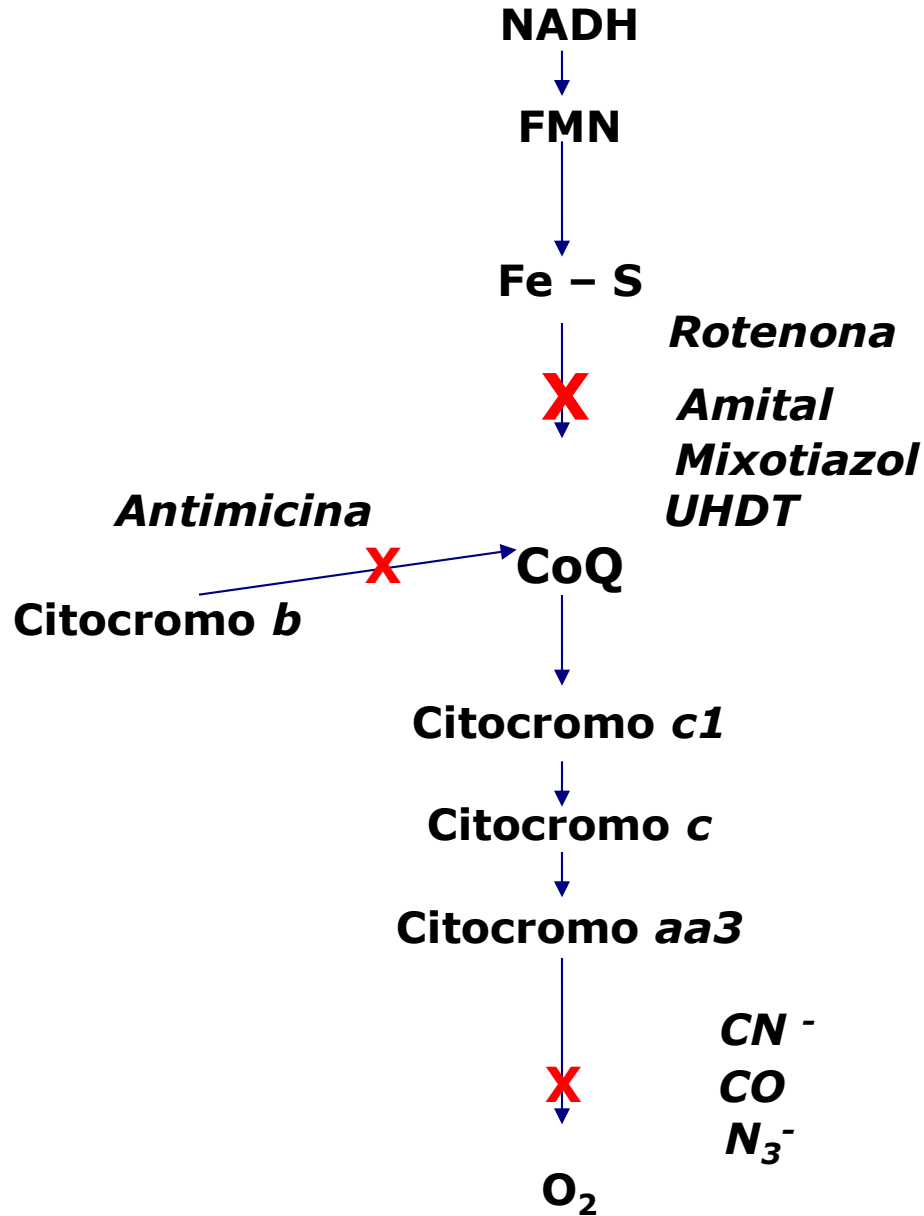


table 19-4

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	
	Antimycin A	Blocks electron transfer from cytochrome <i>b</i> to cytochrome <i>c</i> ₁
	Myxothiazol	
	Rotenone	Prevent electron transfer from Fe-S center to ubiquinone
	Amytal	
	Piericidin A	
Inhibition of ATP synthase	DCMU	Competes with Q _B for binding site in PSII
	Aurovertin	Inhibits F ₁
	Oligomycin	Inhibit F _o and CF _o
	Venturicidin	
Uncoupling of phosphorylation from electron transfer	DCCD	Blocks proton flow through F _o and CF _o
	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.

Agentes Desacopladores

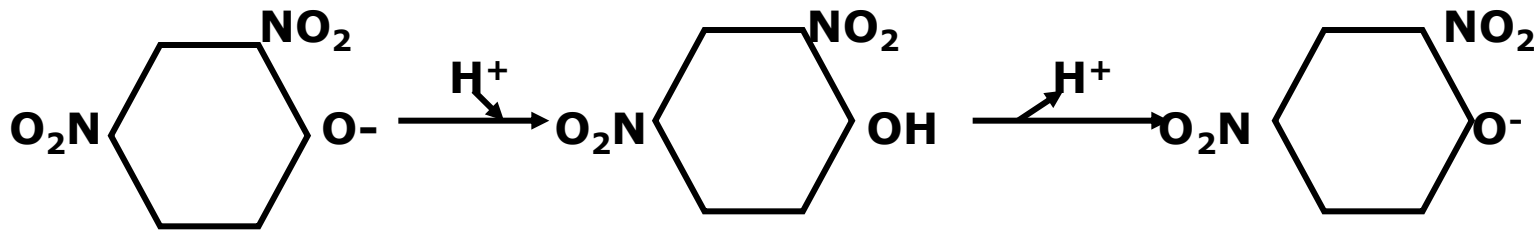
→ Transporte de elétrons sem formação de ATP

→ Energia Livre dissipada como *Calor*

a) Desacopladores Protonóforos

Aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial interna aos prótons de H^+

Ex. 2,4 dinitrofenol



b) Desacopladores Ionóforos

Aumento de permeabilidade a diferentes cátions como K^+ , Na^+ e H^+

Ex. Valinomicina → K^+

Gramicidina → K^+ , Na^+