

BIOENERGÉTICA – PRÊMIO NOBEL DE QUÍMICA EM 1978

Divo L. Sanioto  
 Instituto de Química, Depto. de Bioquímica  
 Universidade de São Paulo, Cxa. Postal 20780  
 S. Paulo, S.P. – Brasil

Considerável fração de energia liberada dos metabólitos no seu processo de degradação na célula é acumulada em forma de energia química na molécula de ATP (Adenosinatrifosfato). Esta molécula funciona como principal transportador de energia química na célula, servindo como fonte de energia facilmente disponível para execução das diferentes atividades celulares.

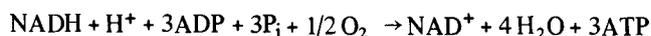
Deve-se enfatizar que enquanto a transformação da energia armazenada nos metabólitos, catalizados por sistemas múltiplos enzimáticos, ocorre nas bactérias e algas azuis associada à membrana plasmática desses microorganismos, nos seres superiores ela se passa em grande parte na membrana de uma organela especializada chamada mitocôndria, (processo de fosforilação oxidativo) e em pequena proporção em outros sítios reacionais da célula (fosforilação ao nível do substrato).

Desde que a célula utiliza para suas reações metabólicas compostos de carbono formado pelo processo fotossintético, a energia luminosa é portanto, em última análise, a fonte energética primária para os sistemas biológicos.

A mitocôndria é uma organela de forma arredondada ou alongada, de número constante e característico para determinado tipo celular. As mitocôndrias, de célula de fígado de rato, as mais intensamente estudadas, são aproximadamente em número de 800 por célula e apresentam em média 2µm (10<sup>-6</sup>m) de comprimento e um pouco menos de 1µm de largura na célula íntegra. Ao microscópio eletrônico essa organela se caracteriza pela presença de um en-

voltório formado por duas membranas. A membrana interna apresenta-se lisa e pouco elástica enquanto que a interna envia prolongamentos ou invaginações para o seu interior. Essas invaginações são as cristas mitocondriais e são artificiais que proporcionam aumento da superfície interna em relação ao volume da organela. Entre as cristas encontra-se a matriz.

Hoje sabemos que a fosforilação oxidativa está acoplada à respiração dos tecidos animais, isto é, a energia necessária à síntese de ATP a partir de ADP e fosfato é derivada da energia liberada durante o transporte de elétrons via cadeia respiratória localizada na mitocôndria. Quantitativamente para cada átomo de oxigênio consumido há um determinado número de moléculas de ATP sintetizado. Este fato é traduzido pela reação P/O, que significa o número de moléculas de fosfato inorgânico incorporado ao ADP em ligação pirofosfórica por átomo de oxigênio consumido<sup>2</sup>. Assim durante a oxidação do NADH na mitocôndria formar-se-ão três moléculas de ATP por átomo de oxigênio consumido (P/O = 3), de acordo com a equação química global seguinte:



Esta equação química pode ser desmembrada em uma parte exergônica:

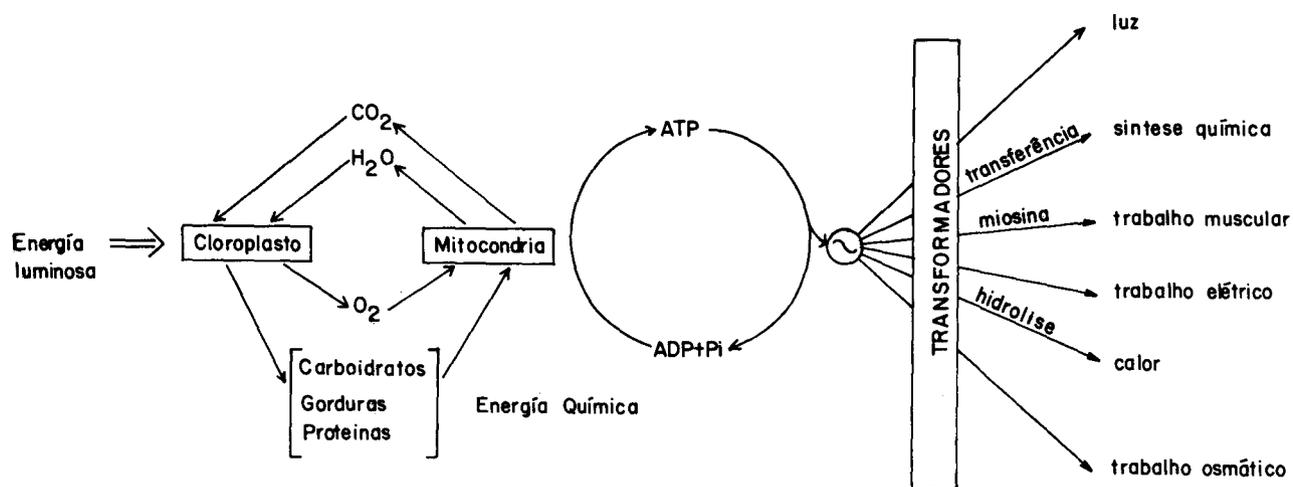
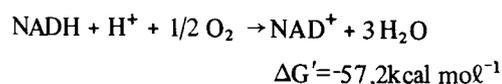
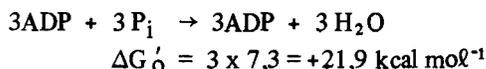


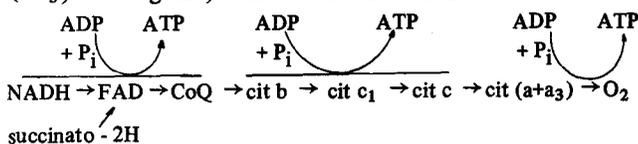
Fig. 1 - Ciclo de transformação de energia nas células dos organismos superiores.

e uma parte endergônica:

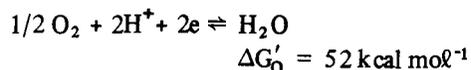


Como o sistema vivo obedece a primeira lei da termodinâmica, observa-se que a energia requerida na reação endergônica é suprida pelas reações exergônicas. Nisto reside a idéia fundamental do acoplamento energético, um dos conceitos básicos em bioenergética<sup>3</sup>.

Há três segmentos da cadeia respiratória, sítios acopladores de energia, nos quais ocorrem decréscimos relativamente grandes de energia livre, cada qual suficiente para fornecer energia necessária para a síntese de ATP. Os sítios acopladores são designados por sítio I (segmento entre NADH e o coenzima Q), sítio II (segmento entre citocromo b e citocromo c) e sítio III (segmento entre citocromo (a-a<sub>3</sub>) e o oxigênio) como é mostrado abaixo:



Sítios prováveis da conservação da energia na cadeia respiratória. Deste modo a cadeia respiratória fragmentaria em uma série de "quantum" de energia a enorme variação de energia livre que ocorre quando um par de elétrons se move do NADH ( $E'_0 = -0,32\text{V}$ ) ao oxigênio molecular ( $E'_0 = + 0,820\text{V}$ ).



#### Mecanismo da fosforilação oxidativa

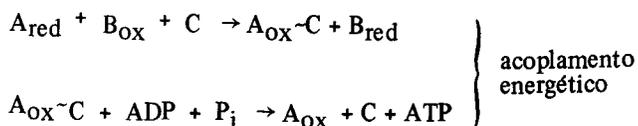
Ainda não há um conhecimento em base molecular detalhado do mecanismo pelo qual a energia de óxido-redução do transporte de elétrons é convertida em energia de ligação fosfato do ATP.

Como resultado de intensas investigações desse processo, de amplo significado em biologia celular, foram propostos três tipos de mecanismo para a fosforilação oxidativa:

#### 1. Hipótese do acoplamento químico:

A transferência de elétrons conduziria a formação de um intermediário covalente de alta energia que atuaria como precursor na síntese de ATP. Este precursor de alta energia ( $\text{A}_{\text{OX}}\text{-C}$ ) é formado quando a forma reduzida de um transportador,  $\text{A}_{\text{red}}$ , transfere seus elétrons para a forma oxidada de outro transportador,  $\text{B}_{\text{ox}}$ .

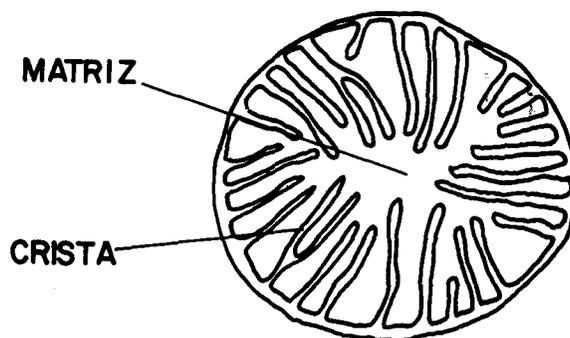
A energia para síntese de ATP seria derivada da cisão da ligação rica em energia que existe em  $\text{A}_{\text{OX}}\text{-C}$ .



A reação global será:



a)



b)

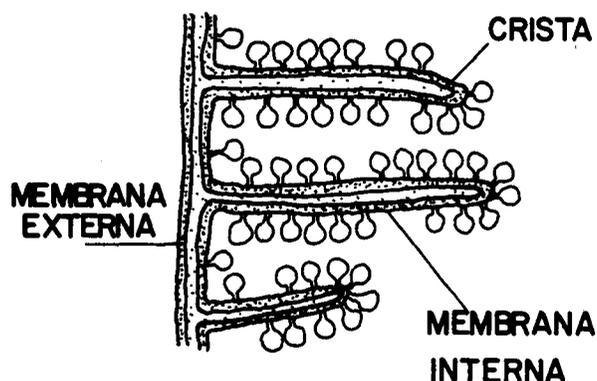


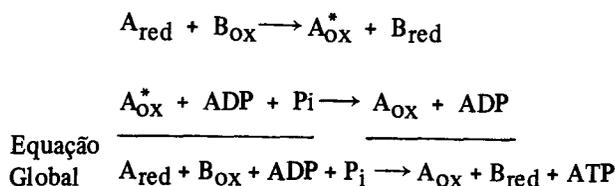
Fig. 2 - Seção Transversal Esquemática da Mitocôndria

Este modelo é baseado fundamentalmente no mecanismo da fosforilação ao nível do substrato, como ocorre, por exemplo em certas reações da via glicolítica.

#### 2 Hipótese do acoplamento conformacional

Segundo essa hipótese formar-se-ia um estado ativado conformacional do transportador  $\text{A}_{\text{OX}}^*$  que corresponderia a um intermediário covalente de alta energia  $\text{A}_{\text{OX}}\text{-C}$  admitido pela hipótese do acoplamento químico.

A energia armazenada no transportador conformacionalmente ativado seria utilizada para a síntese de ATP.



A hipótese conformacional seria em última análise em sua concentração uma variante da hipótese do acoplamento químico.

O exame ao microscópio eletrônico evidenciou que a mitocôndria em estado fosforilante ativo, na presença de excesso de ADP, o compartimento interno acha-se muito condensado enquanto que na ausência de ADP, a sua estrutura é a usual.

### 3. Hipótese do acoplamento quimiosmótica

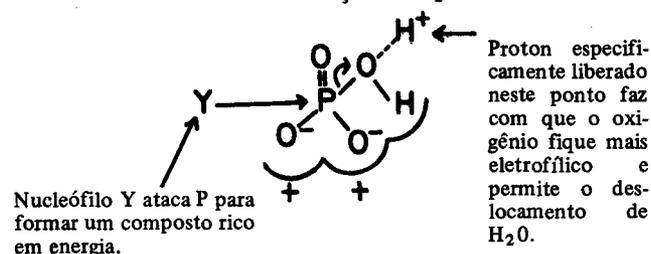
Considerando que há necessidade da presença de uma membrana mitocondrial interna intacta, que até agora não há evidência experimental de composto intermediário de alta energia e dificuldade de explicação geral da ação dos desacopladores de estrutura química tão diferente no processo de oxidação fosforilativa, Peter Mitchell, bioquímico inglês, propôs em 1961 a hipótese quimiosmótica da oxidação fosforilativa.<sup>4,5,6,7,8</sup>

Segundo essa hipótese, que valeu a Mitchell o prêmio Nobel de Química em 1978, a membrana da mitocôndria contém algumas bombas de próton que seriam operadas pelo fluxo de elétrons as quais provocam a passagem de prótons através da membrana interna, oriundos da matriz, para o espaço intermembranoso. Haveria três bombas de prótons na cadeia de transporte de elétrons, um para cada sítio fosforilativo.

Os transportadores de elétrons seriam organizados vectorialmente, isto é, seriam orientados com respeito as duas faces da membrana mitocondrial interna, de sorte que, quando os elétrons fluem através da cadeia respiratória haveria liberação unidirecional de prótons. Próton acumularia na face externa da membrana interna, fazendo com que esta adquirisse carga positiva (polarização da membrana) e queda de pH no espaço intermembranoso.

Segundo a idéia básica da teoria quimiosmótica a  $F_1$ -ATPase (ATP sintetase) orientada na membrana mitocondrial é capaz de utilizar a energia livre do gradiente de prótons para provocar a síntese de ATP.

Um composto covalente de alta energia Y - P seria formado pelo ataque nucleófilo de Y no átomo de fósforo do  $P_i$  com a saída de  $OH^-$ . Para que essa reação ocorresse, em pH baixo a ATPase orientada libertaria um próton e o material próximo do oxigênio fazendo-o mais eletrofílico e com isto favorecendo a eliminação de  $H_2O$ .



Haveria também a possibilidade do próton ser especificamente gerado no devido lugar através do transporte de elétrons<sup>9</sup>. Assim pela oxidação do  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$  no citocro-

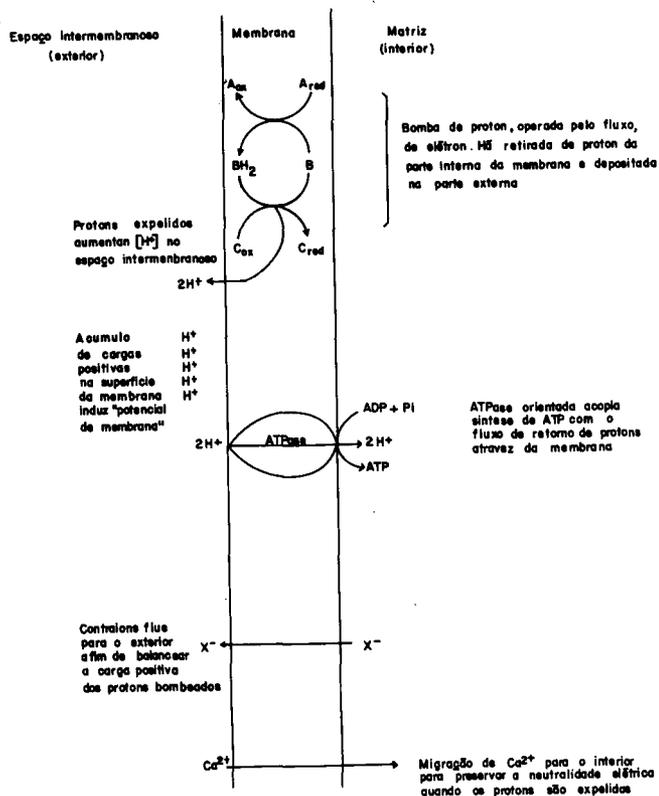
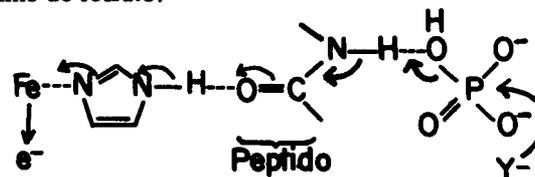


Fig. 3. Esquema da teoria quimiosmótica da oxidação fosforilativa.

mo haveria um deslocamento eletrônico que se propagaria da histidina coordenada, peptido e outros grupos polares tendo como consequência a produção de um próton próximo do fosfato.



Podemos imaginar que tal deslocamento pode ser transmitido pela proteínas adjacentes até o centro ativo da  $F_1$ -ATPase.

Uma vez formado este intermediário de alta energia, ele cederia imediatamente sua energia ao ADP para a síntese de ATP.

<sup>1</sup>E. Racker - Sci. Amer. 218 (2), 32, 1968.

<sup>2</sup>A. L. Lehninger: The Mitochondrion: Molecular Basis of Structure and Function, Benjamin, Menlo Park, Calif. 1964.

<sup>3</sup>B. Pullman e A. Pullman - "Quantum Biochemistry", Interscience Publishers, Londo, 1963.

<sup>4</sup>P. Mitchell - Nature, 191, 144 (1961).

<sup>5</sup>P. Mitchell and J. Moyle, Eur. J. Biochem. 7, 471 (1969).

<sup>6</sup>E. C. Slater - Quart. Rev. Biophys. 4, 35 (1971).

<sup>7</sup>P. Mitchell - FEBS Lett. 33, 267 (1973).

<sup>8</sup>P. D. Boyer, B. Chance, L. Ernster, P. Mitchell, E. Racker e E. C. Slater - Ann. Rev. Biochem. 46, 955-1026, 1977.

<sup>9</sup>D. E. Metzler: "Biochemistry": The chemical Reactions of cells, Academic Press, Inc. New York, 1977.