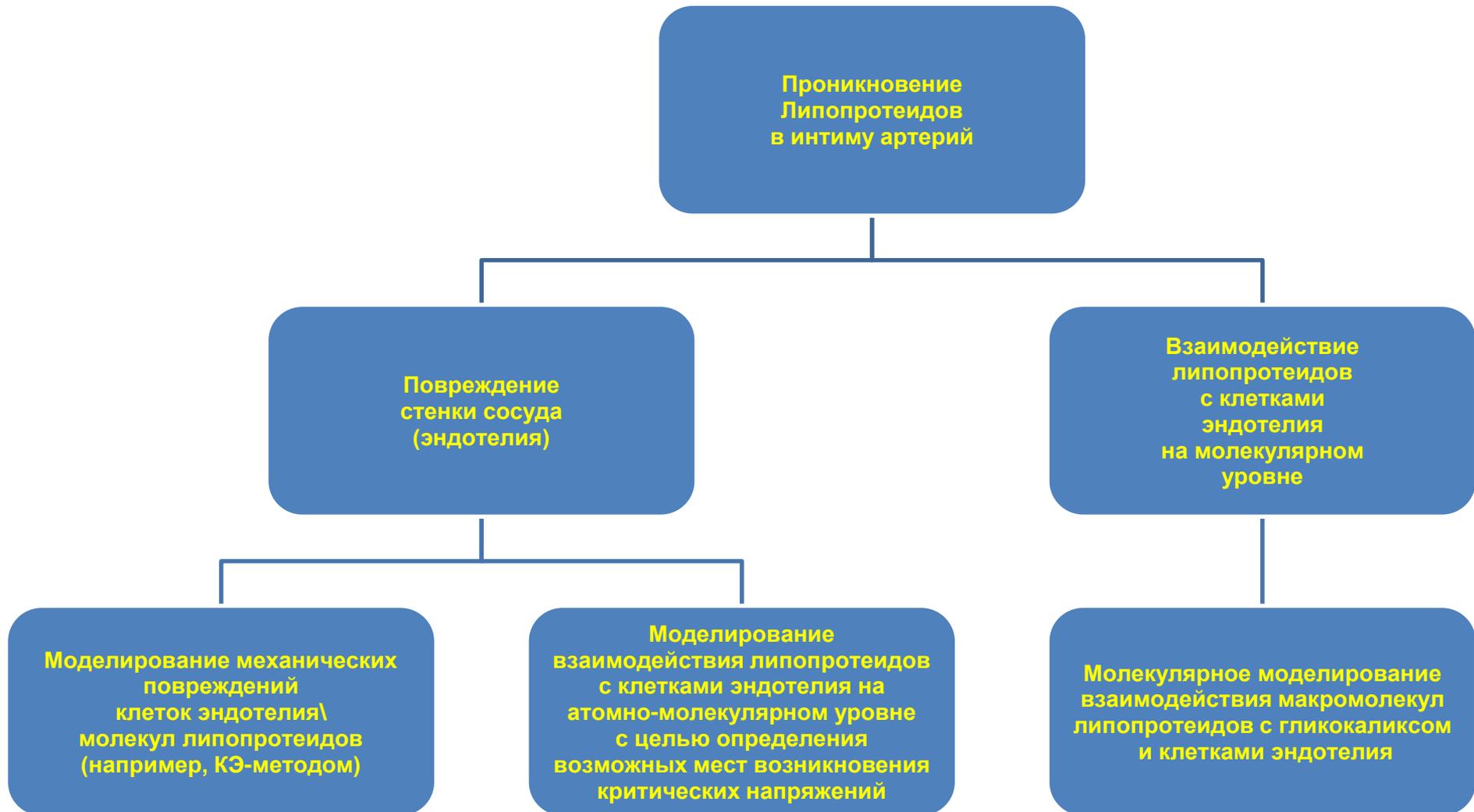


Мультимасштабное моделирование диффузии жиробелковых комплексов в интиму артерий

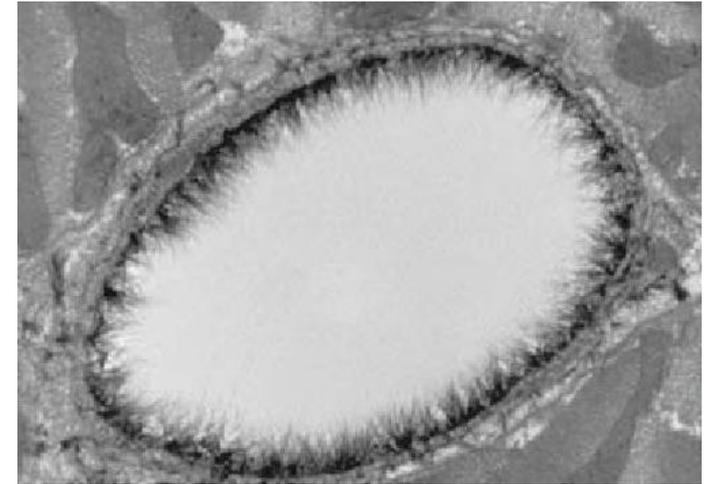
Глухова Ольга Евгеньевна, д.ф.-м.н., профессор
НИУ Саратовский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского,
e-mail: glukhovaoe@info.sgu.ru

Процесс липопротеидной инфильтрации в интиму артерий: МКЭ/крупно-зернистая МД



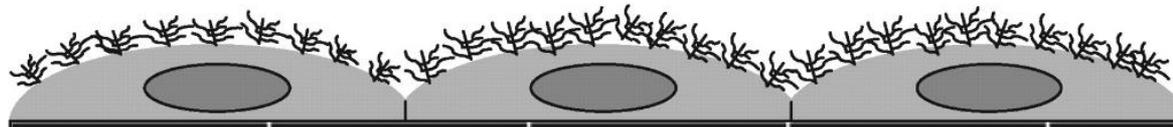
Эндотелий

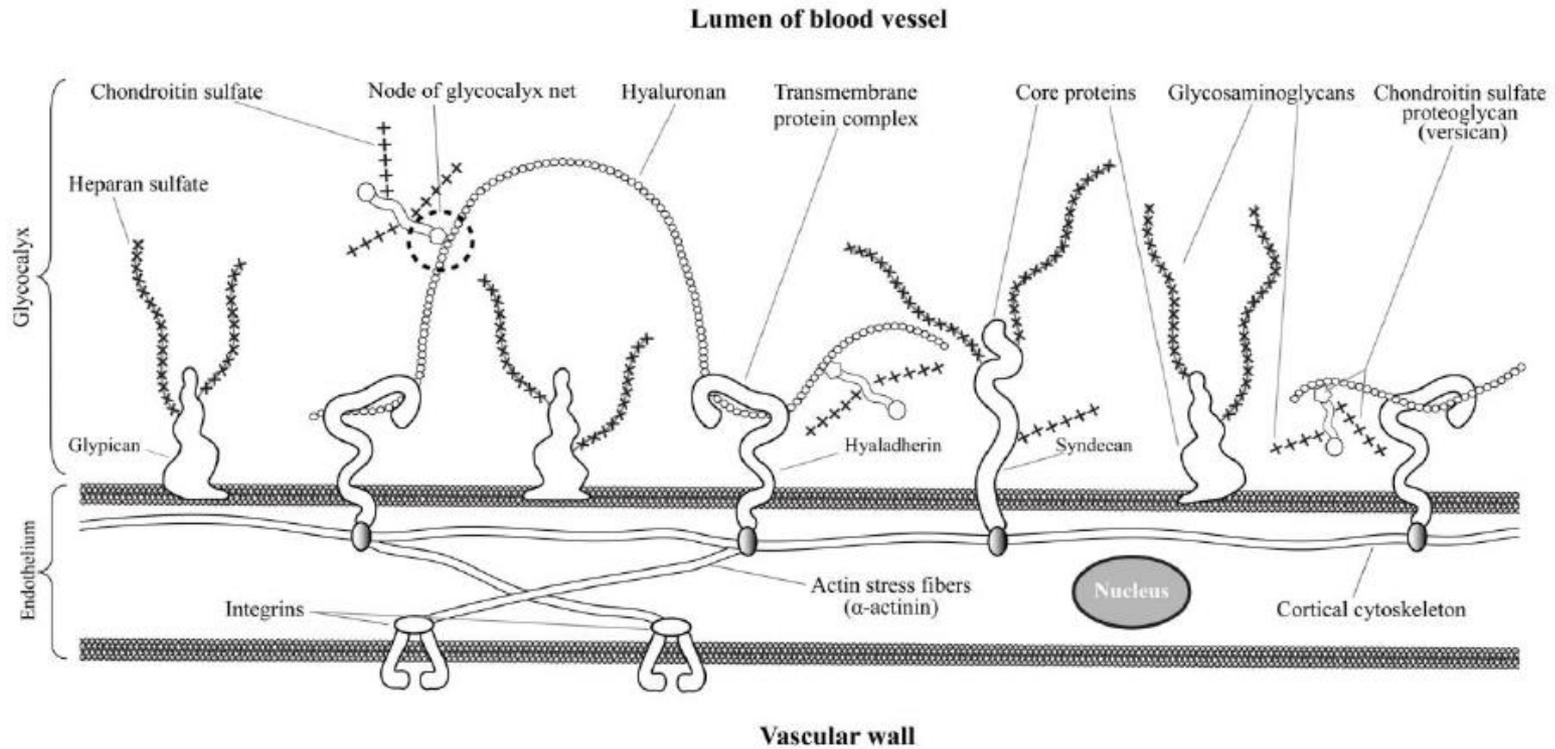
- Внутренний слой со стороны просвета сосуда выстлан клетками **эндотелия**. Его клетки имеют уплощенную вытянутую форму с продольной осью, ориентированной по длиннику сосуда. Межклеточные границы имеют вид тонких, слегка извитых линий. Чем дистальнее расположен артериальный сегмент и чем меньше его диаметр, тем более вытянуты выстилающие его эндотелиоциты и тем меньше угол их отклонения от оси сосуда.
- В местах отхождения ветвей эта закономерность нарушается: **расположение эндотелиоцитов становится хаотичным, а их форма — полигональной**. Размеры артериальных эндотелиоцитов достаточно вариабельны. **Длина клеток составляет 25–50 мкм, ширина — 7–15 мкм**, толщина выбухающей в просвет ядросодержащей части — до 3 мкм, а по периферии 1 мкм.
- Важным структурно-функциональным элементом эндотелиального монослоя являются межклеточные контакты. Периферические и контактные зоны смежных клеток могут просто накладываться друг на друга либо формировать интердигитации, значительно усложняющие контуры межклеточной щели. При этом край одной из клеток свободно свисает в просвет сосуда, образуя так называемую маргинальную складку. Пространство между клетками **шириной в среднем 2–3 нм на всем протяжении заполнено межклеточным «цементом», близким по своим физико-химическим свойствам к гликокаликсу.**



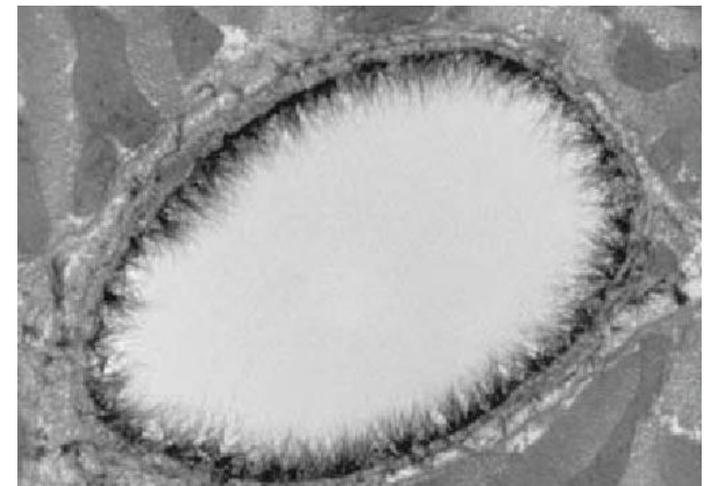
Endothelial glycocalyx :
желудочковый
миокардиальный капилляр
(электронная микроскопия)

*3rd Micro and Nano Flows Conference
Thessaloniki, Greece, 22-24 August
2011*





Schematic representation of the glycocalyx meshwork associated with cytoskeleton. Hyaluronan weaves into glycocalyx and binds with hyaladherins (CD-44 /hyalreceptor/, RHAMM /receptor for hyaluronan-mediated motility/, other proteins or hyaluronansynthases). Chondroitin sulfate proteoglycan (versican) interacts with hyaluronan to form high molecular mass stable aggregates. Enhanced formation of hyaluronan-versican pericellular coat is observed under pathophysiological conditions (inflammation, early atherosclerosis, restenosis, plaque thrombosis, and others).



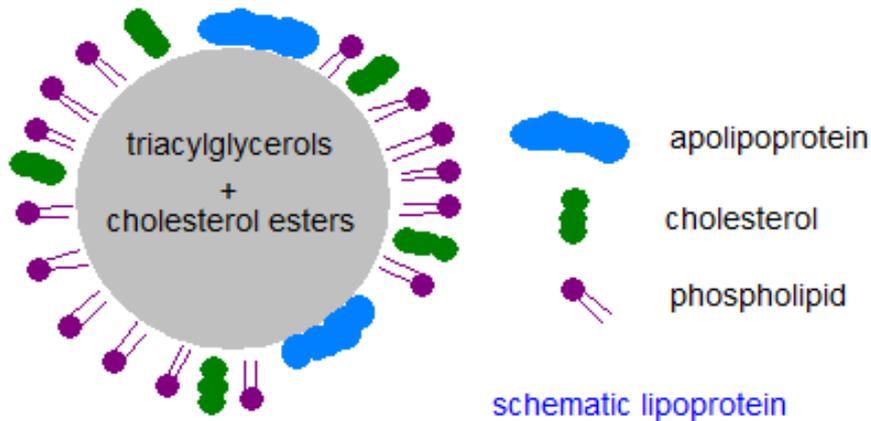


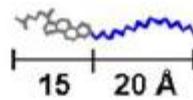
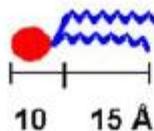
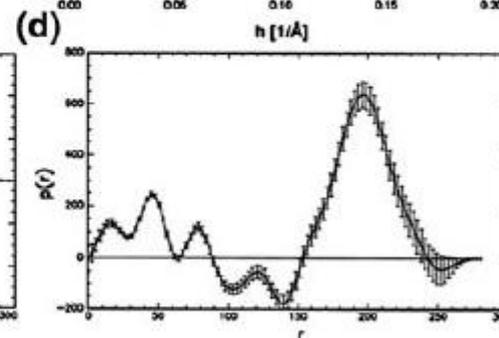
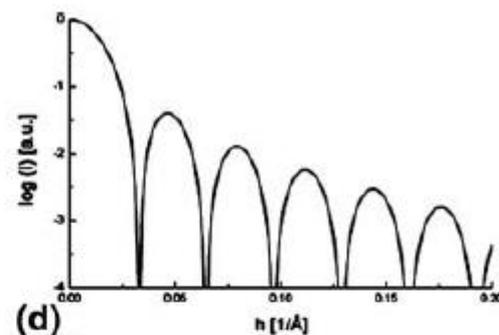
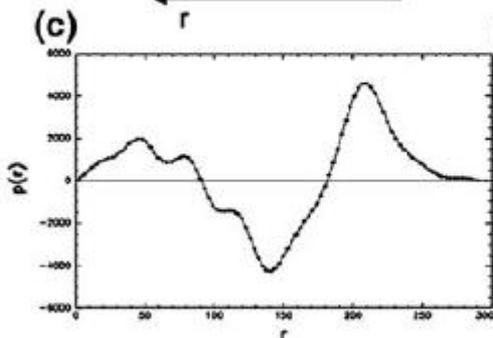
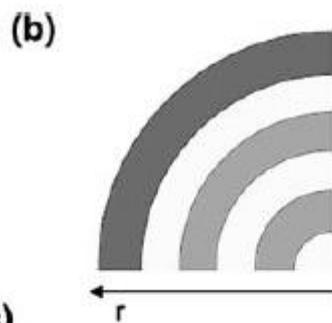
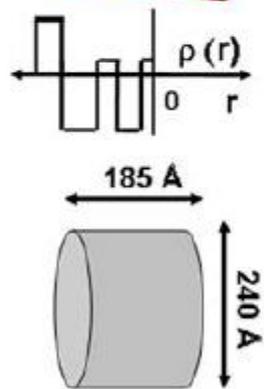
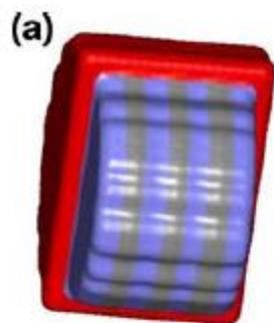
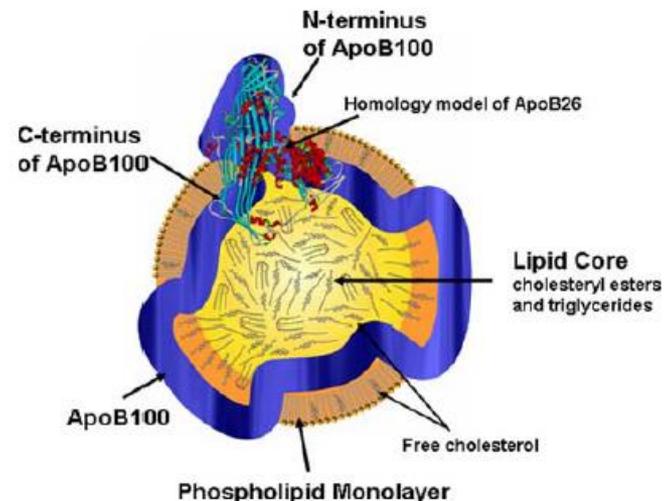
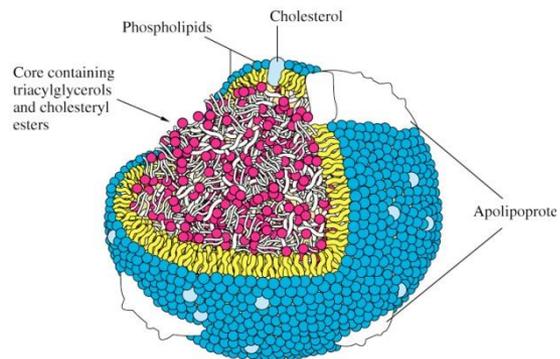
Table 1. Physical properties and lipid compositions of lipoprotein classes.

	CM	VLDL	LDL	HDL
Density (g/ml)	< 0.94	0.94-1.006	1.006-1.063	1.063-1.210
Diameter (Å)	6000-2000	600	250	70-120
Total lipid (wt%) *	99	91	80	44
Triacylglycerols	85	55	10	6
Cholesterol esters	3	18	50	40
Cholesterol	2	7	11	7
Phospholipids	8	20	29	46

* Most of the remaining material comprises the various apoproteins.

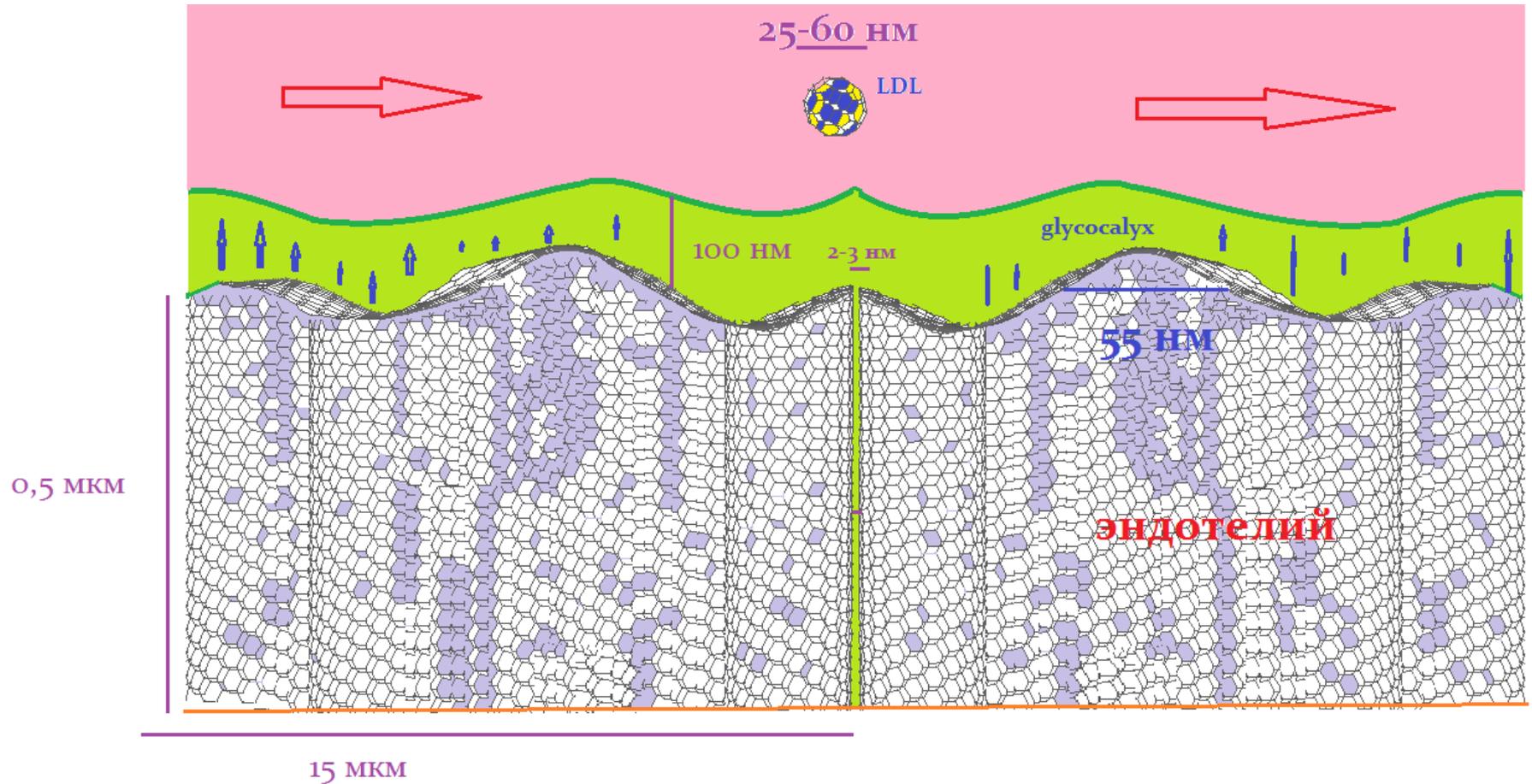
In general, apoproteins are required to solubilize the non-polar lipids in the circulation. Lipoproteins are spherical (VLDL, LDL, HDL) to discoidal (nascent HDL) in shape with a core of non-polar lipids, triacylglycerols and cholesterol esters, and a surface monolayer consisting of phospholipids and non-esterified cholesterol, which also serve to present a hydrophobic face to the aqueous phase, as illustrated schematically below.

Структура липопротеидов. Модели



Липопротеид низкой плотности

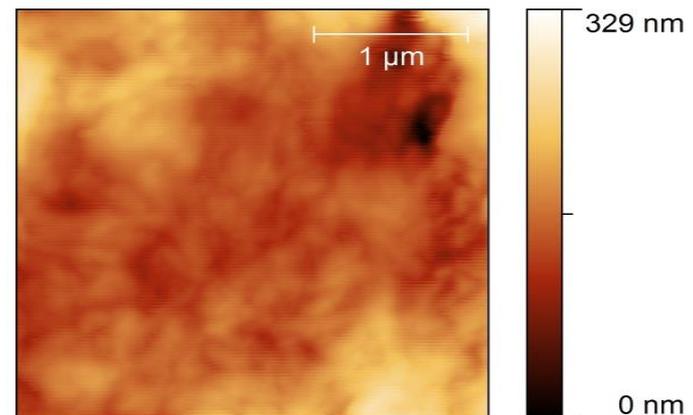
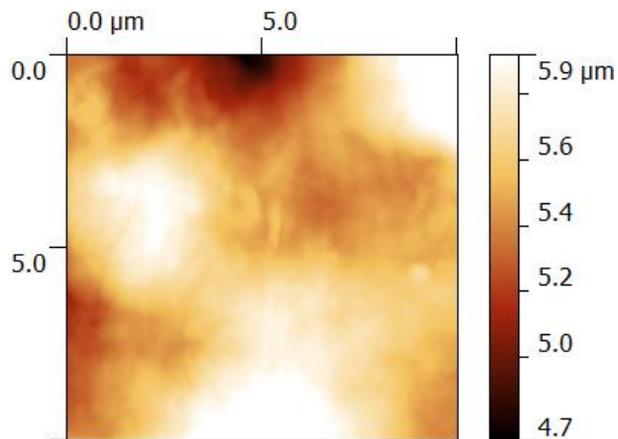
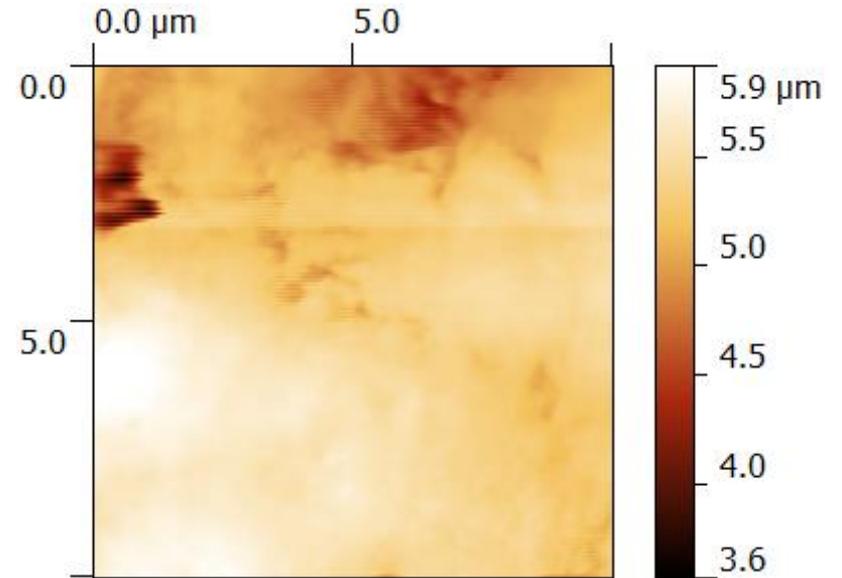
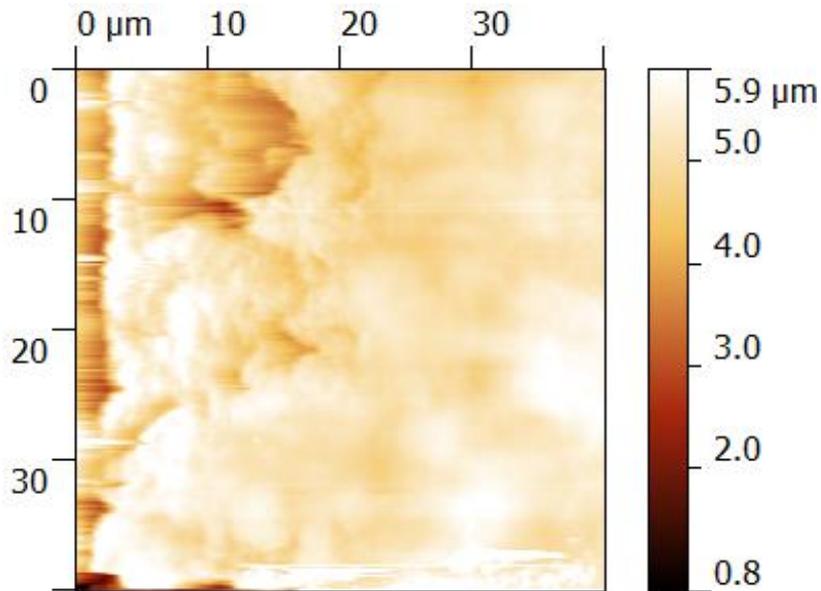
Клетки эндотелия и липопротеины НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ



Применение атомной силовой микроскопии для исследования топологии поверхности эндотелия и построения конечно-элементной модели поверхности эндотелия

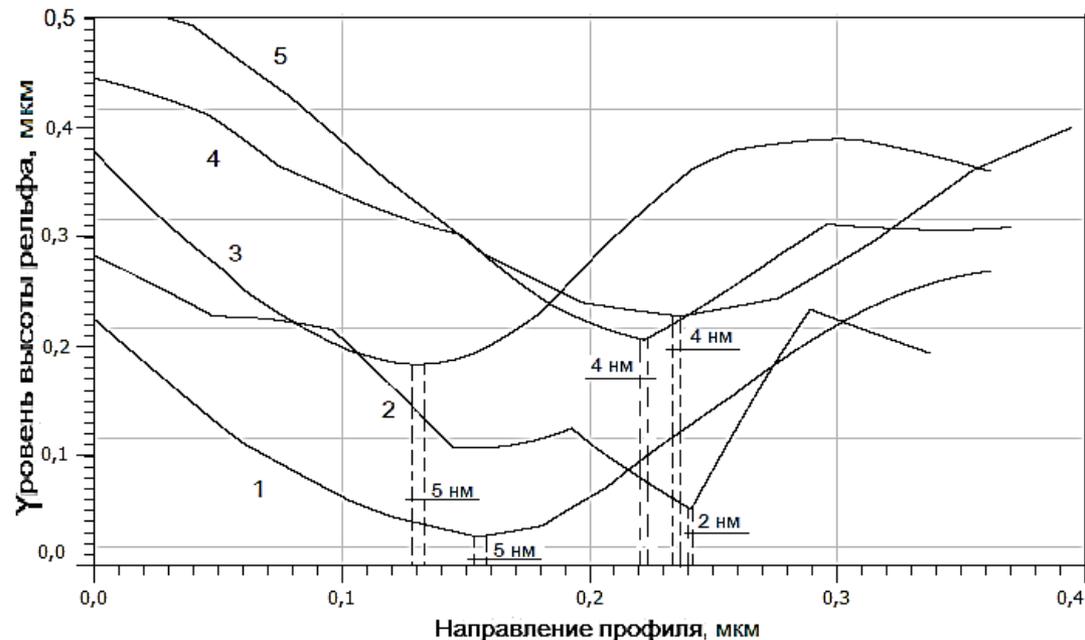
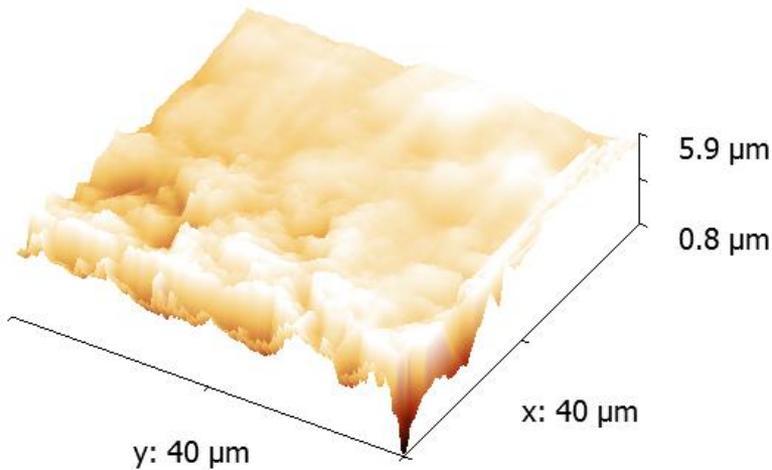
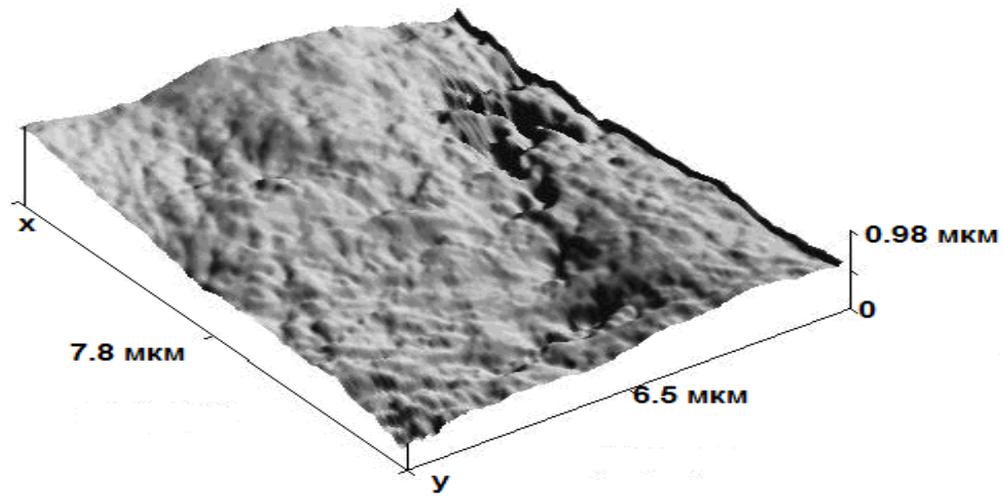
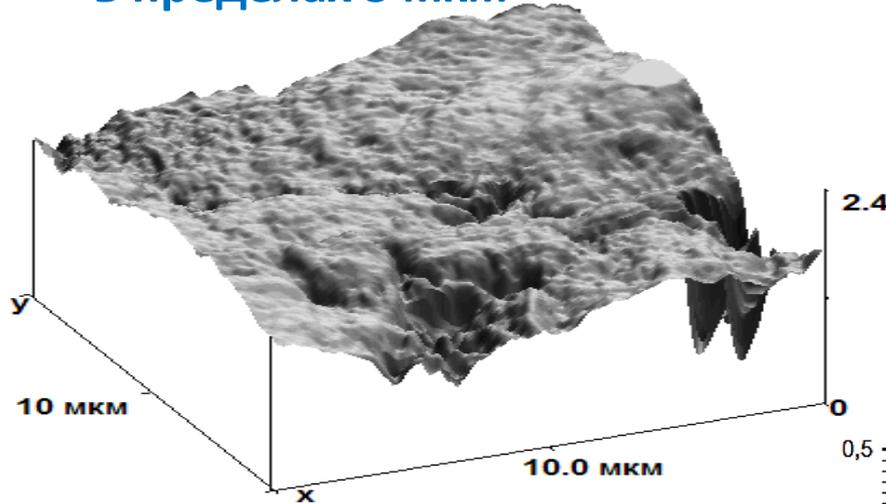
д.м.н. Г.Н.Маслякова – Саратовский гос. медицинский университет

к.ф.-м.н. И.В. Кириллова , Д.А. Заярский – Саратовский гос. университет им. Н.Г.Чернышевского



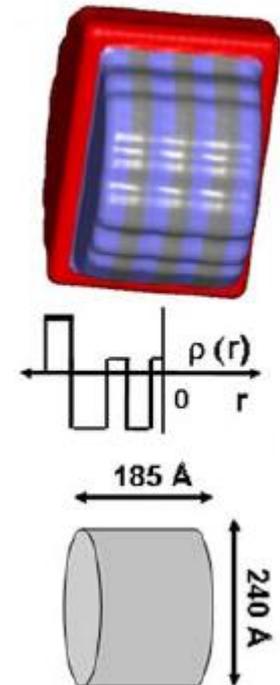
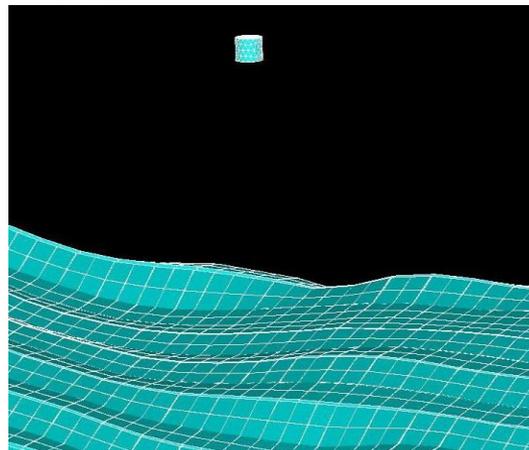
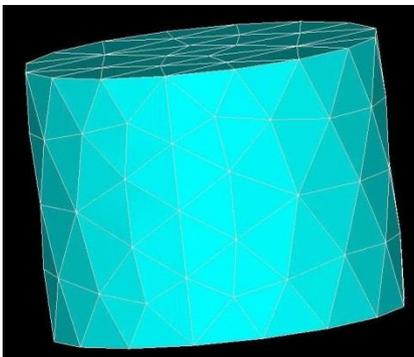
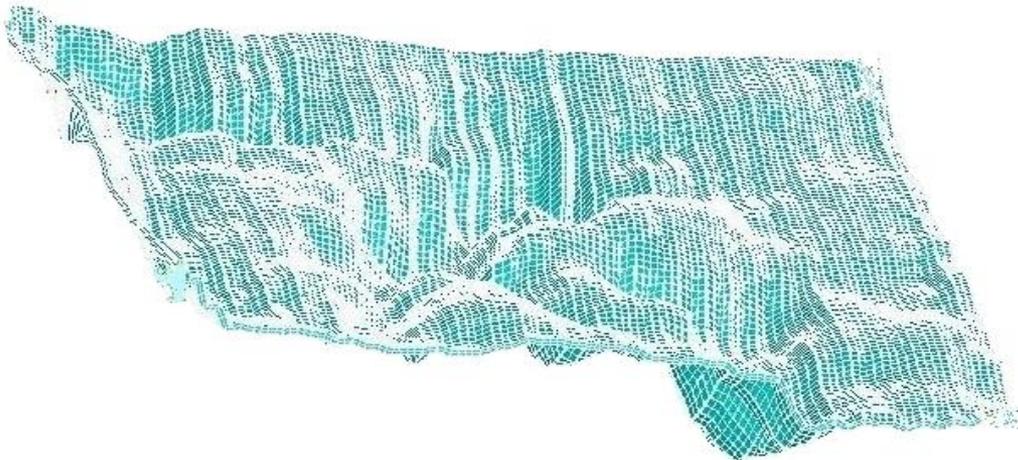
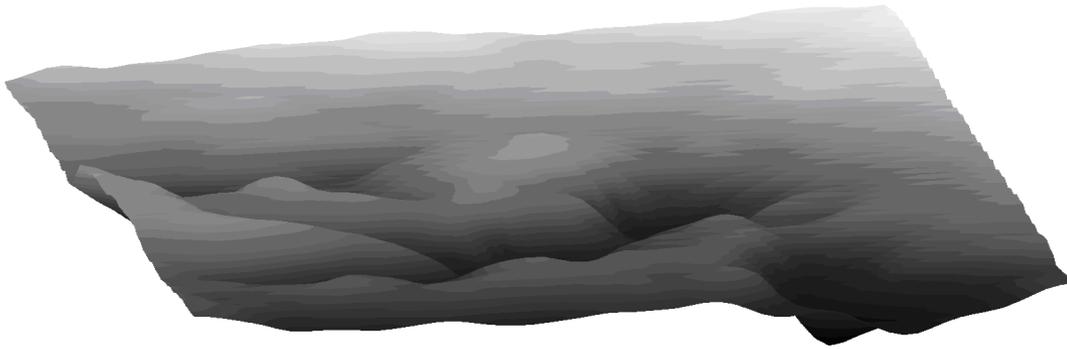
Развитая топология поверхности

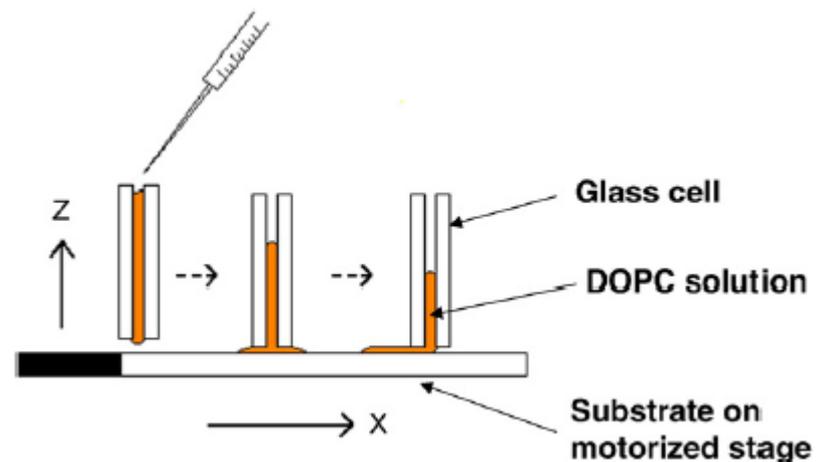
Перепады высот варьируются в пределах 5 мкм



Конечно-элементное моделирование взаимодействия липопротеинов и клеток эндотелия

(к.ф-м.н., Д.В. Иванов,
А.А. Фадеев - СГУ)





Модули упругости липидов

Young's Moduli (in kPa) of DOPC multilayered films prepared by (a) solution spreading, (b) capillary method, and (c) spin-coating

Samples by preparation methods	thickness (μm)	Average Young's moduli (kPa) from Hertz model for a parabolic tip	Average Young's moduli (kPa) from Hertz model for a conical tip
Solution spreading	3.3	124 ± 34	70 ± 18
Capillary method	4.3	127 ± 47	100 ± 19
Spin-coating	3.0	168 ± 47	117 ± 36

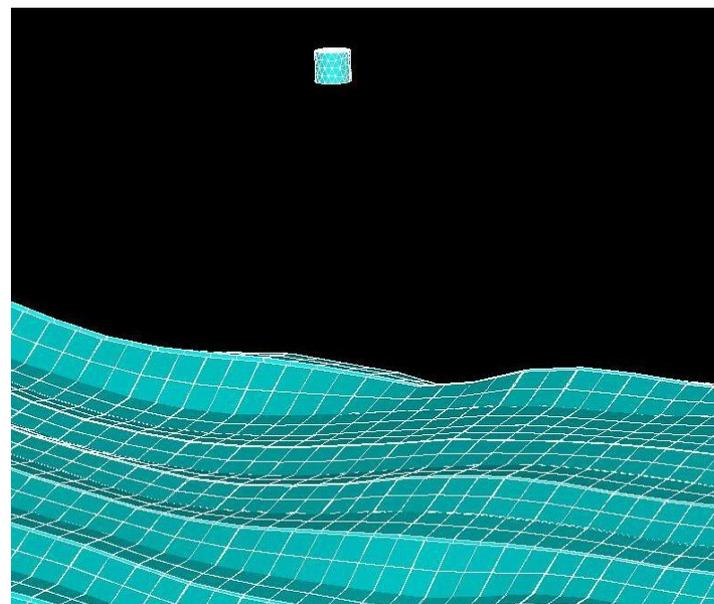
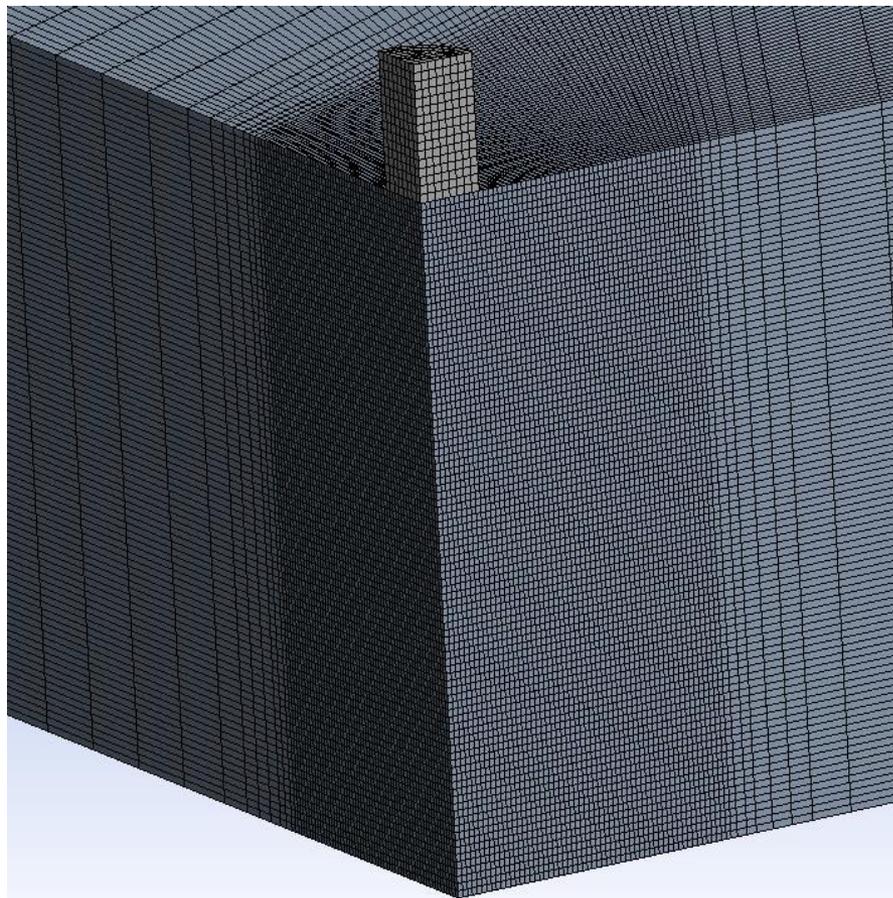
Модули упругости эндотелиальных клеток

Table 2 Young's modulus of elasticity measured through a variety of experimental techniques on different types of endothelial cells

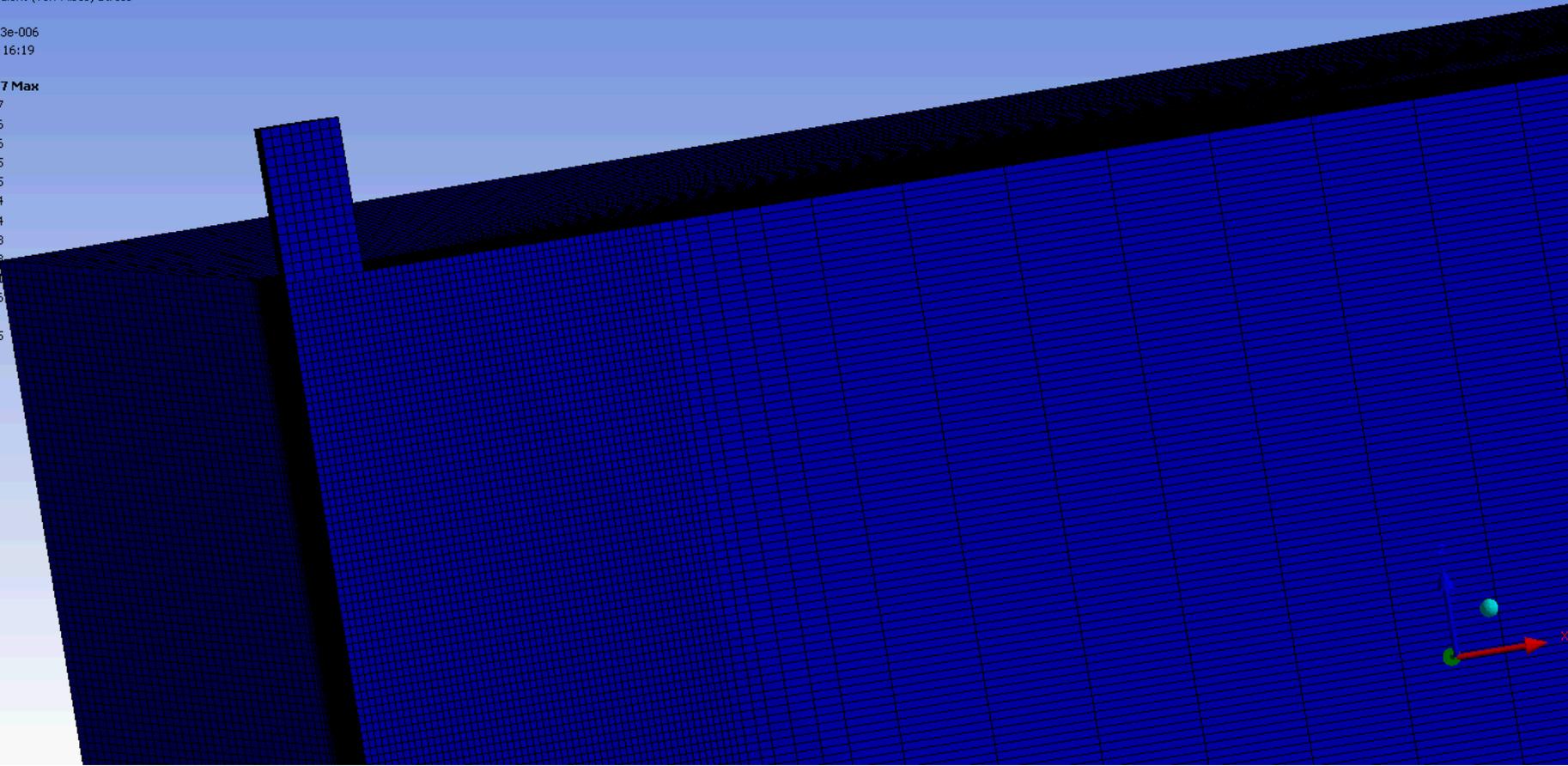
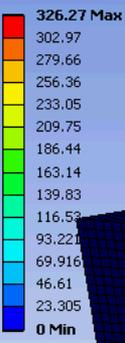
Source	Cell type	Experimental method	Young's modulus (Pa)
Costa et al. (2006)	Human aortic endothelial cell	AFM	1,000–5,000
Schrot et al. (2005)	Porcine/murine cerebral capillary endothelial cells	AFM	5,000
Sato et al. (2004)	Human umbilical vein endothelial cell	AFM	5,000–10,000
Mathur et al. (2001)	Human umbilical vein endothelial cell	AFM	1,400 (near edge); 6,800 (over nucleus); 3,300 (in between)
Sato et al. (2000)	Bovine aortic endothelial cell	AFM	1,000–7,000
Miyazaki and Hayashi (1999)	Rabbit aortic endothelial cell	AFM	600–10,000
Braet et al. (1998)	Rat liver endothelial cell	AFM	2,000
Feneberg et al. (2004)	Human umbilical vein endothelial cell	Magnetic twisting cytometry	400
Deguchi et al. (2005)	Bovine thoracic aortic endothelial cell	Micropipette aspiration	400 (nucleus)
Sato et al. (1990))	Porcine aortic endothelial cell	Micropipette aspiration	150
Theret et al. (1988)	Bovine aortic endothelial cell	Micropipette aspiration	300–800
Caille et al. (2002)	Bovine aortic endothelial cell	Compression between microplates	300–700 (cytoplasm); 4,000–8,000 (nucleus)

AFM atomic force microscopy

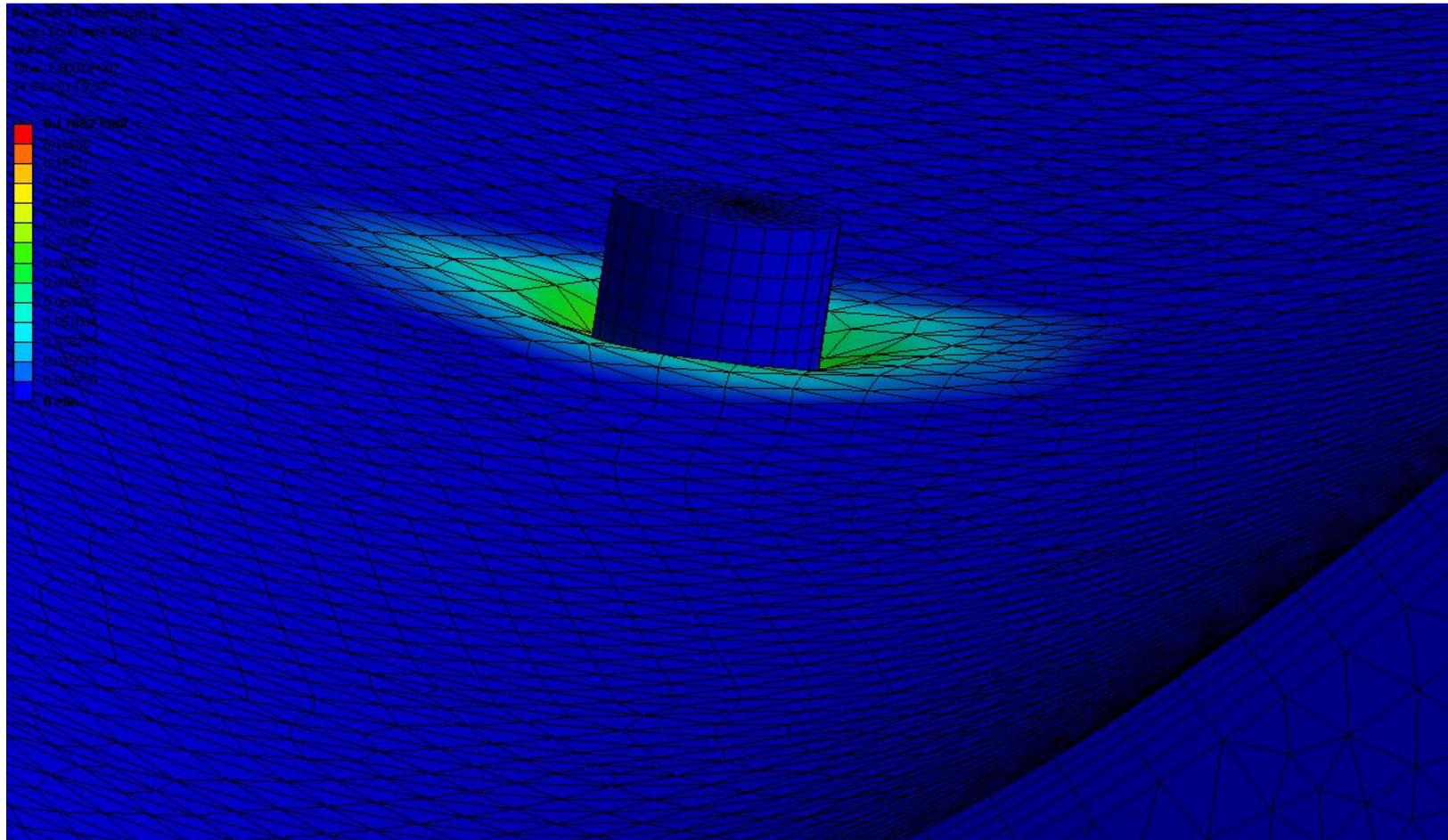
Конечно-элементное моделирование взаимодействия липопротеинов и поверхности клеток эндотелия



D: 1.25e-8
Equivalent Stress
Type: Equivalent (von-Mises) Stress
Unit: Pa
Time: 1.0003e-006
11.01.2013 16:19

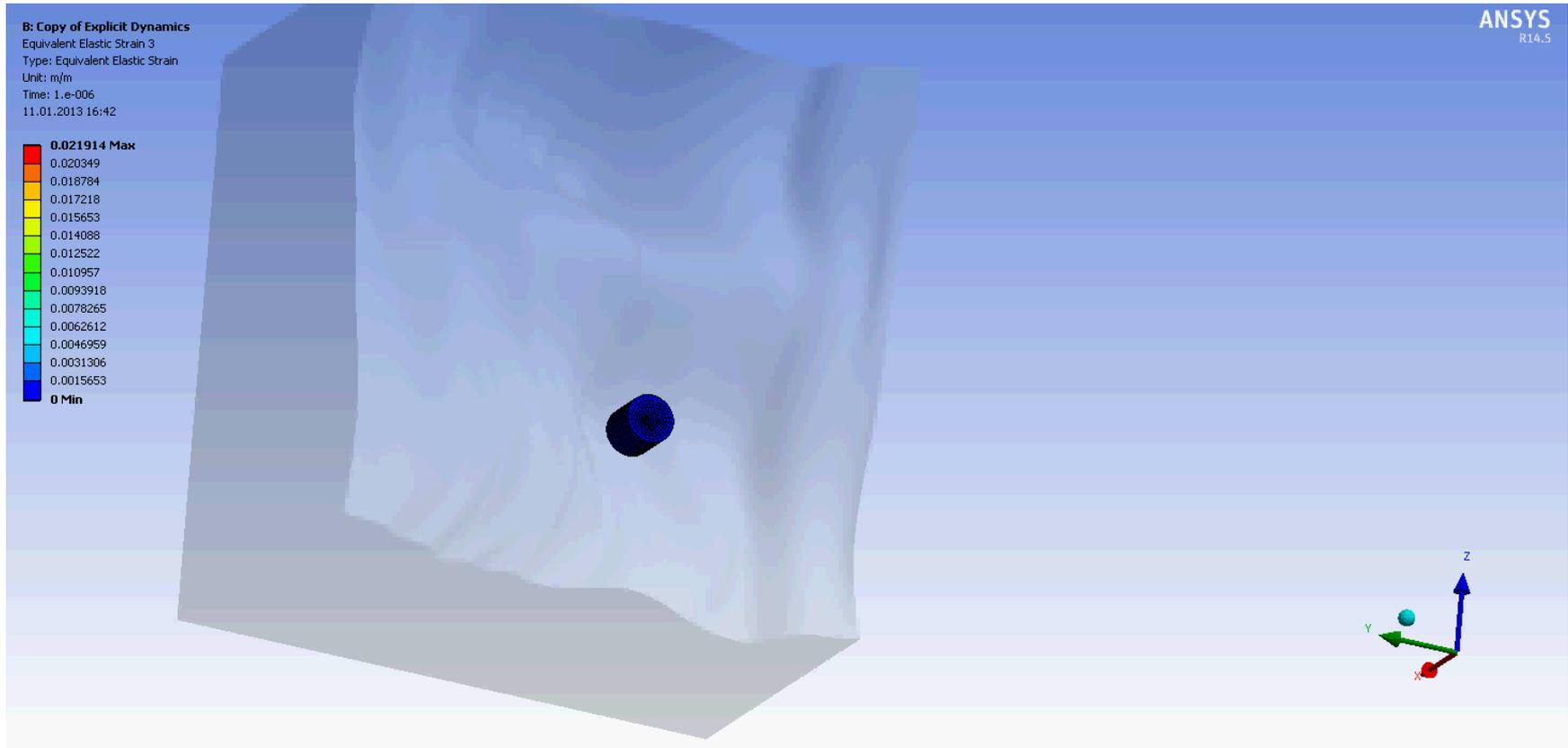


Взаимодействие единичного липопротеина с клетками эндотелия

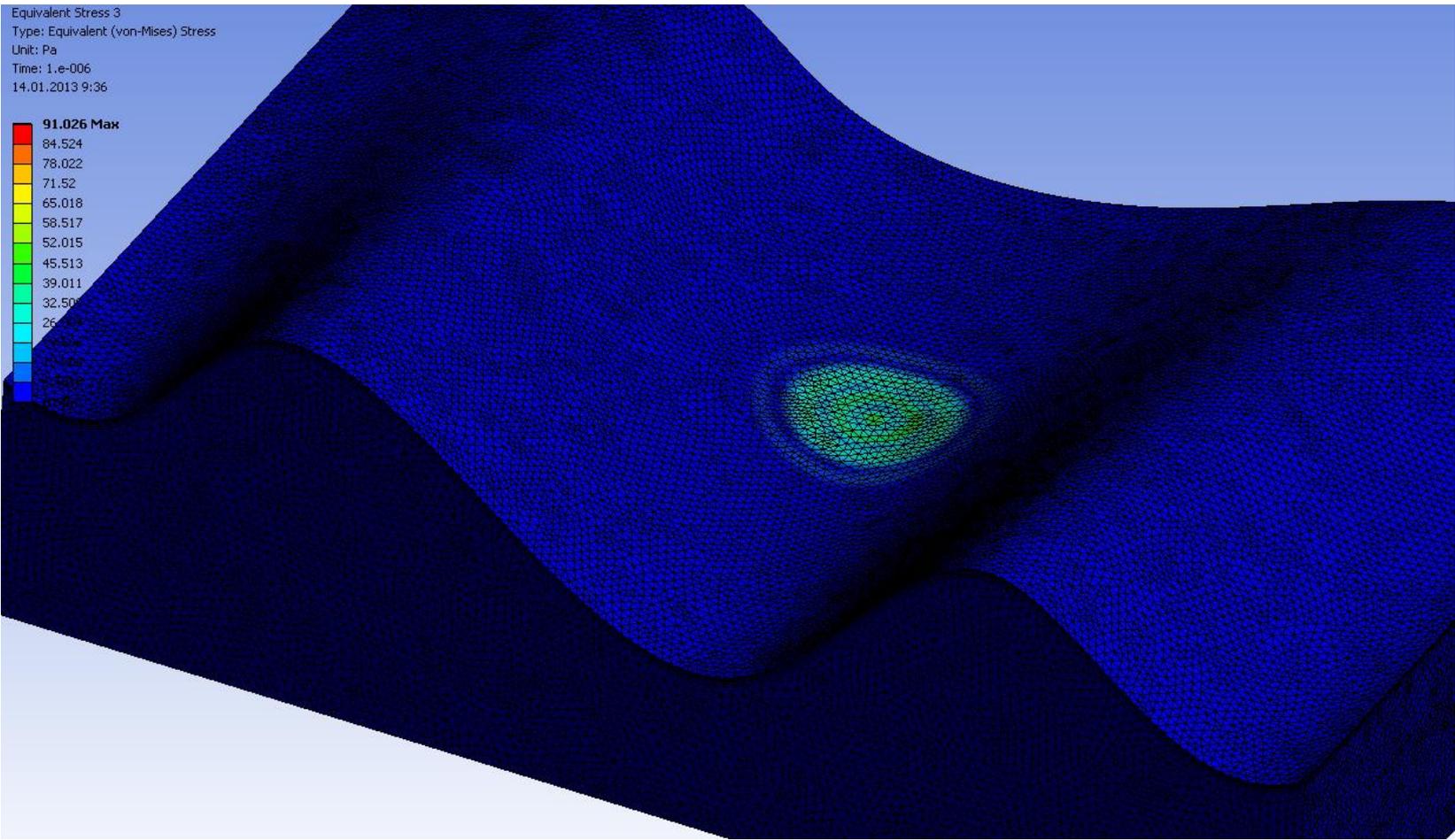
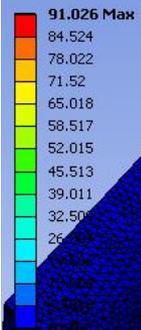


О.Е. Глухова, И.В. Кириллова, Г.Н. Маслякова, Е.Л. Коссович, Д.А. Заярский, А.А. Фадеев Применение атомной силовой микроскопии в исследованиях взаимодействия липопротеидов с интимой артерий // Нано- и микросистемная техника. – 2012. – № 9. С. 34 - 39.

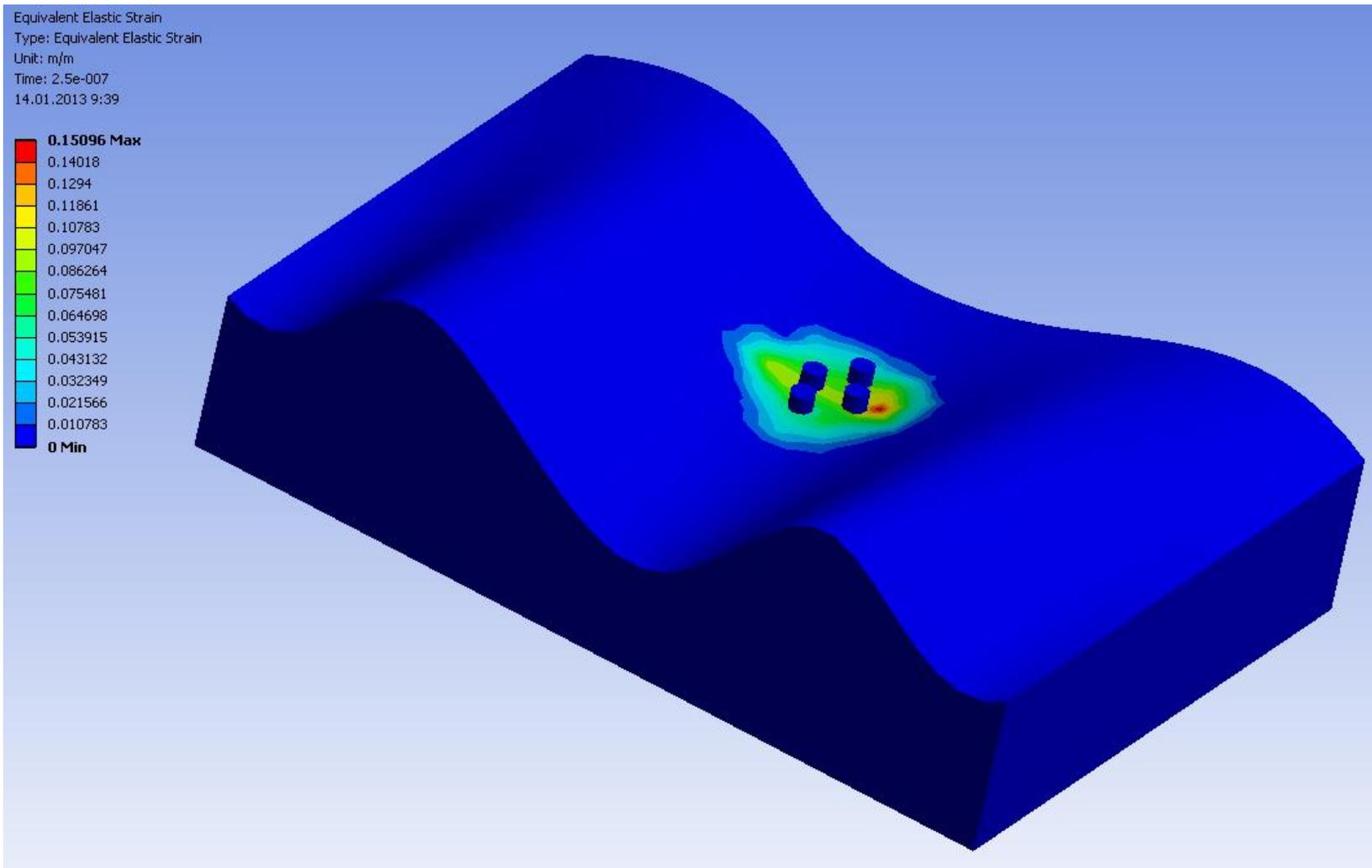
Симулирование процесса соударения



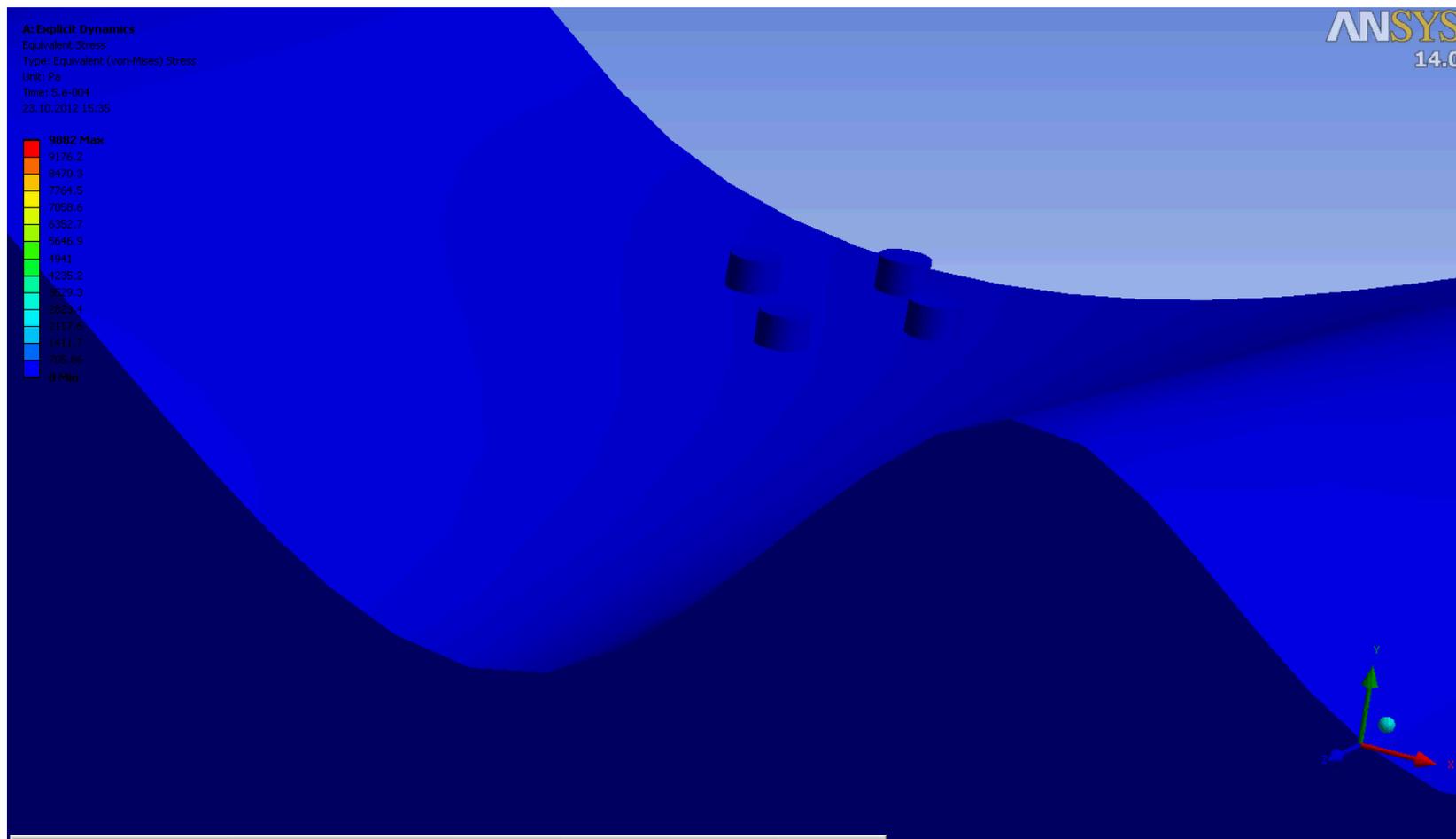
Equivalent Stress 3
Type: Equivalent (von-Mises) Stress
Unit: Pa
Time: 1.e-006
14.01.2013 9:36



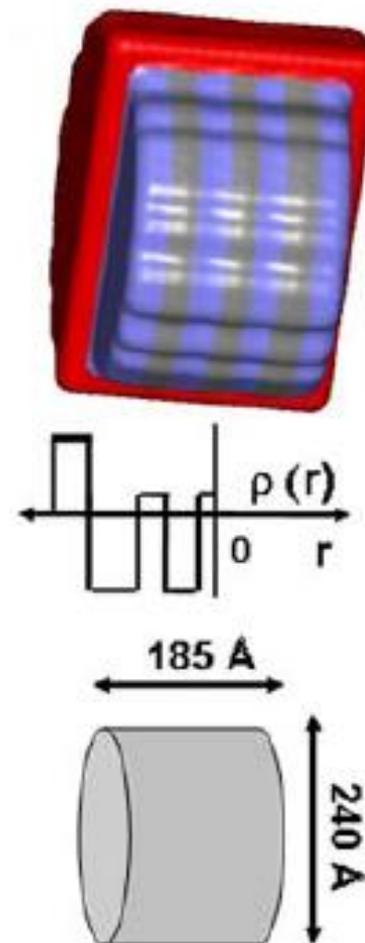
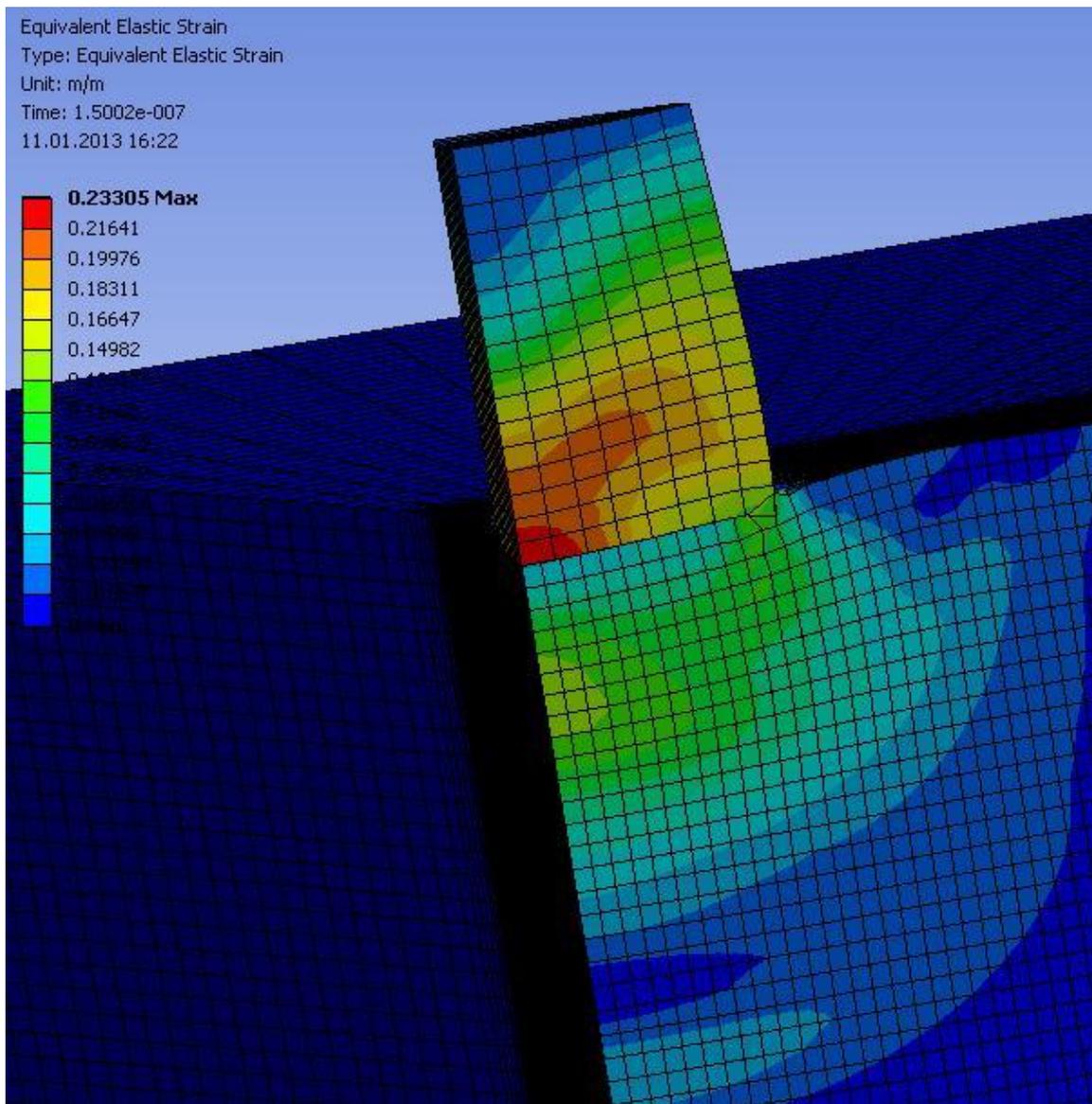
Взаимодействие группы липопroteинов с клетками эндотелия



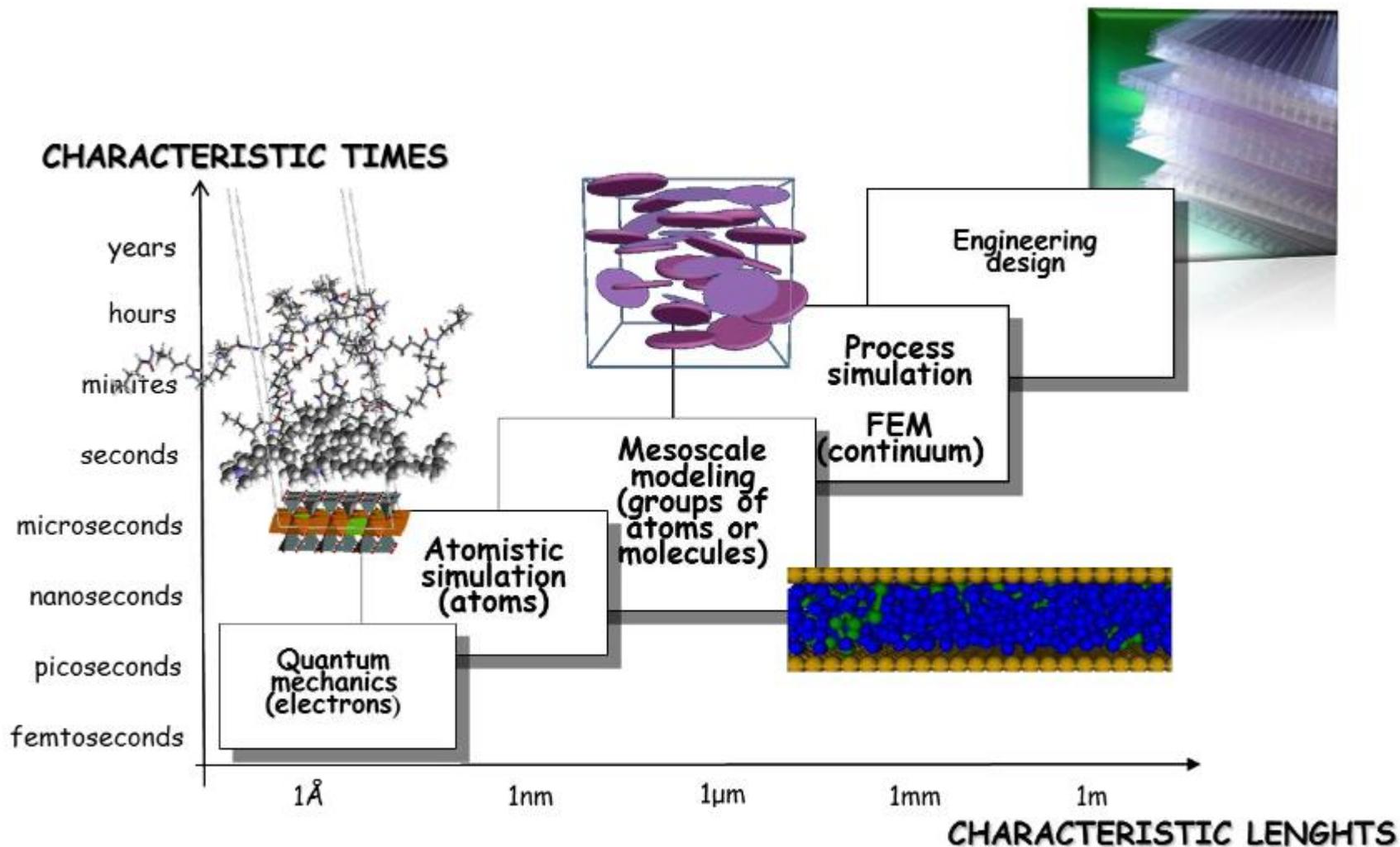
Симулирование удара



Взаимодействие ЛВП с поверхностью эндотелия: МКЭ+МД



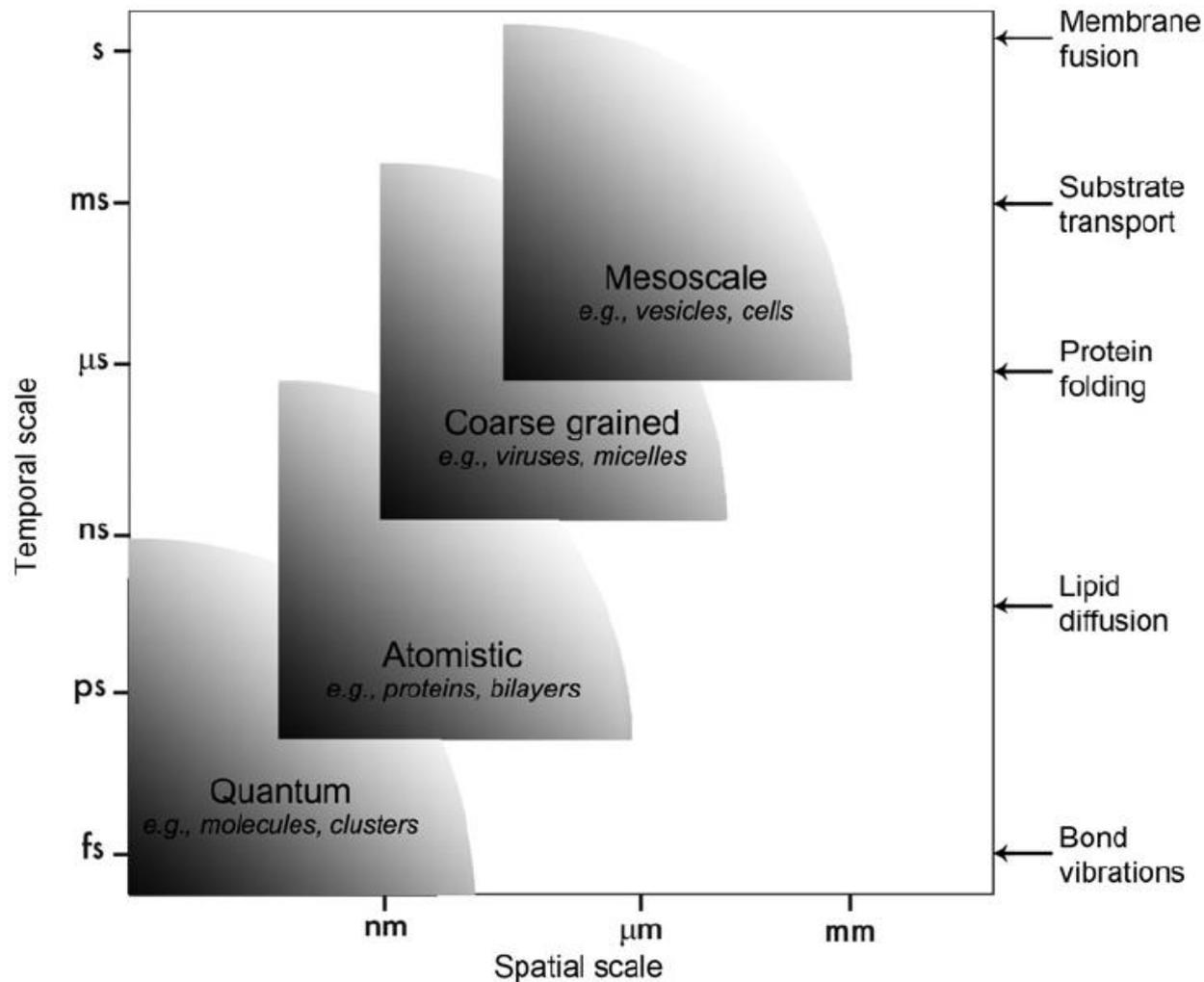
Моделирование поведения биомолекул с помощью крупнозернистой молекулярной динамики

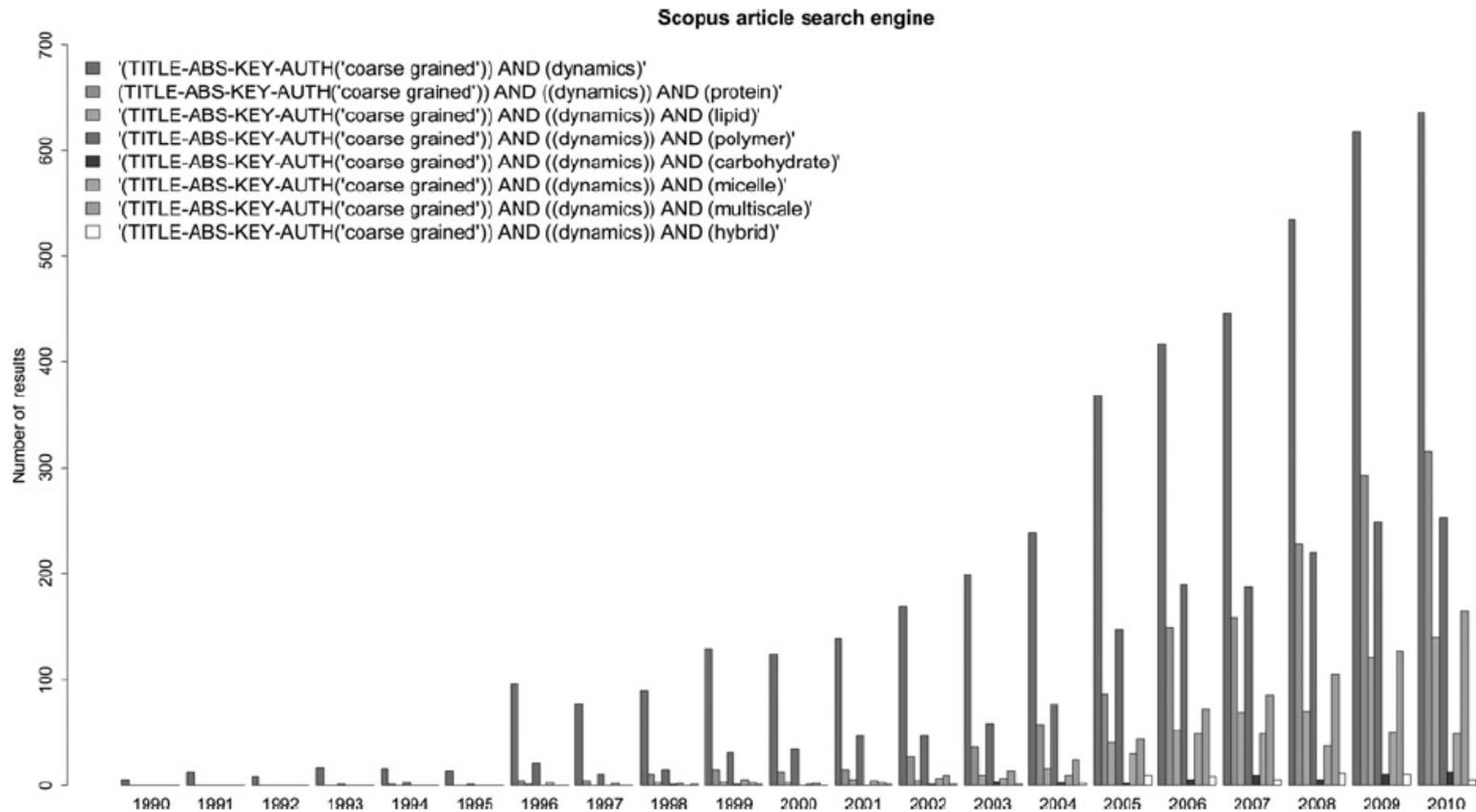


Fermeglia M, Pricl S. Prog Org Coat; 5: 187–99 (2007)

Мультимасштабное моделирование для изучения макромолекул

Схема методов компьютерного моделирования в различных временных и пространственных масштабах, включая конкретные примеры для каждого из них





Results from Scopus[®] upon searching for various terms regarding CG molecular dynamics. Data represents the years 1990–2010. Preliminary results from 2011 are omitted.

Публикационная активность в области МД

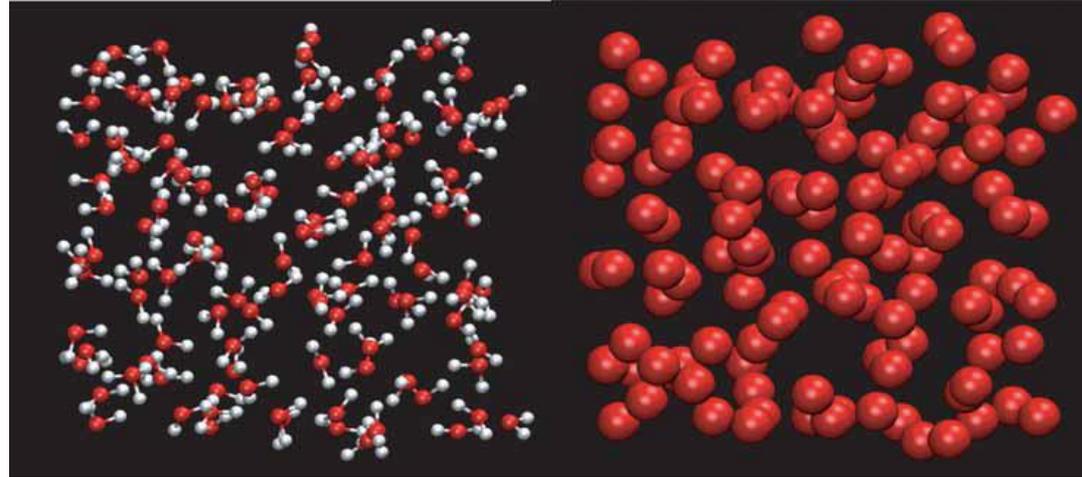
A Review of Coarse-Grained Molecular Dynamics Techniques to Access Extended Spatial and Temporal Scales in Biomolecular Simulations - Bonnie A. Merchant and Jeffrey D. Madura (Annual Reports in Computational Chemistry, Volume 7
ISSN: 1574-1400, DOI 10.1016/B978-0-444-53835-2.00003-1)

Переход от атомистической модели к модели укрупненных частиц (крупнозернистой)

M – количество крупных частиц

N – количество атомов в частице

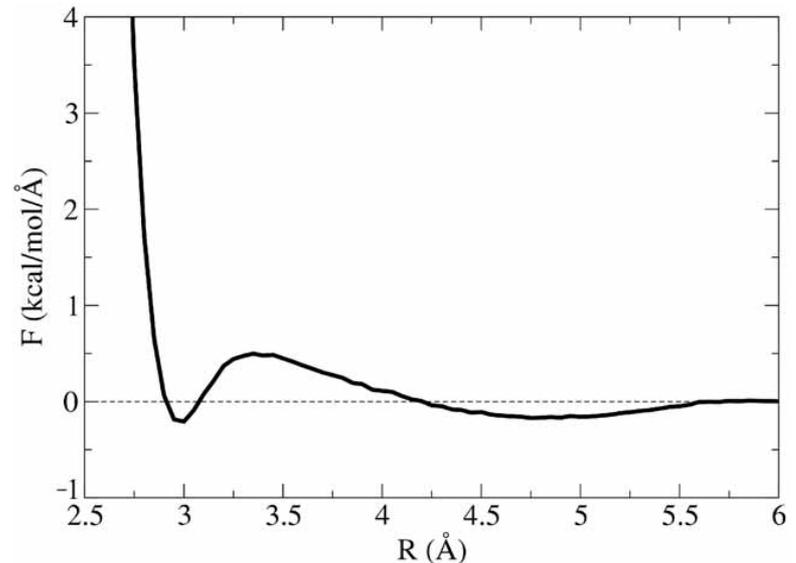
A – свободная энергия Гельмгольца



$$\vec{R}_\alpha = \sum_{i=1}^N c_{\alpha i} \vec{r}_i, \quad \text{with } \sum_{i=1}^N c_{\alpha i} = 1 \text{ for each } \alpha.$$

$$\vec{F}_\alpha^{CG}(\vec{R}) = -\frac{\partial A(\vec{R})}{\partial \vec{R}_\alpha}$$

Взаимодействие между укрупненными частицами воды
Каждая молекула – одна частица



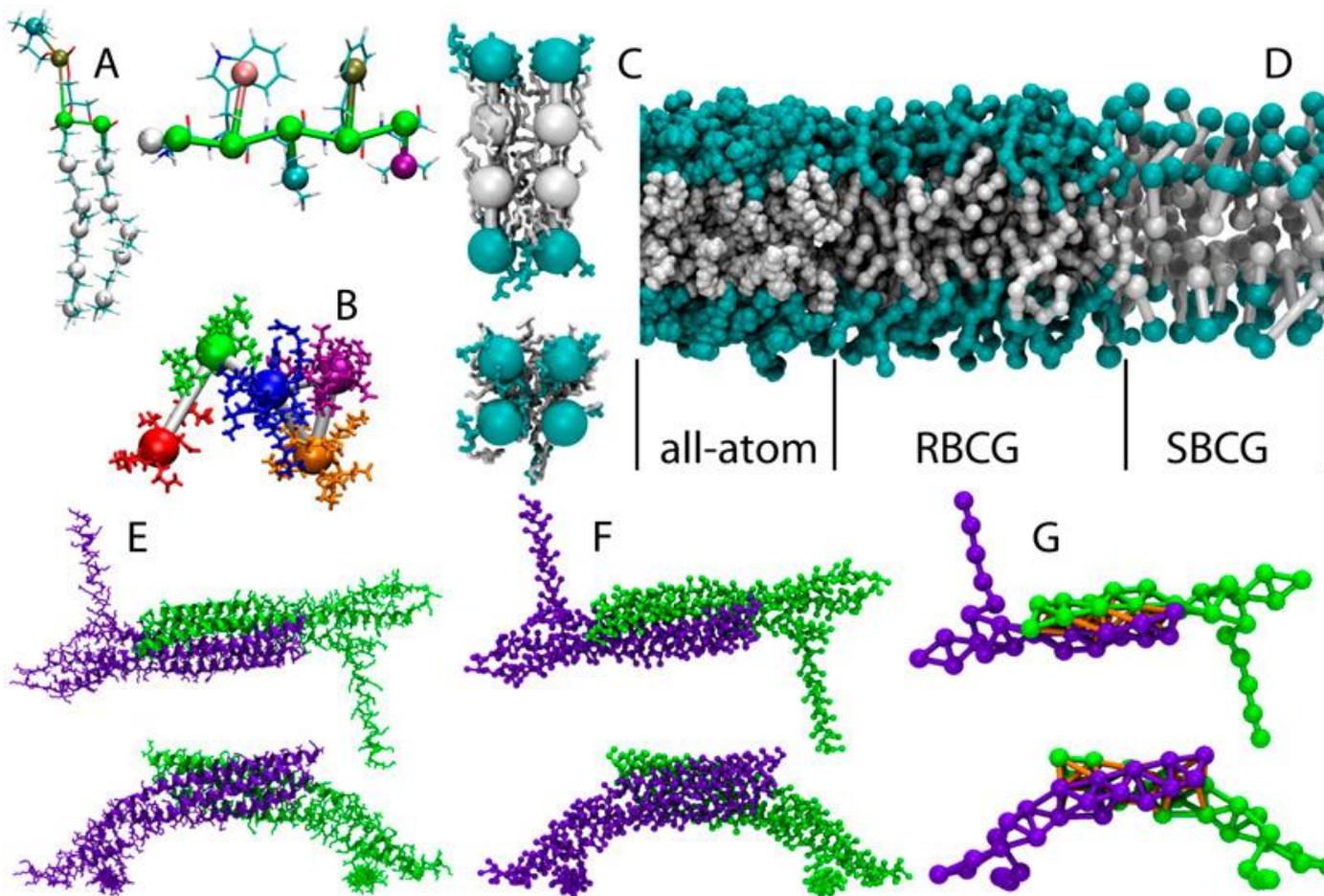
Классы крупнозернистых моделей для биологических молекул и систем



Крупнозернистое моделирование с радикалами (RBCG)

Модель крупнозернистого моделирования с сохранением радикалов широко применяется для изучения протеин-липидных систем, а именно липопротеинов высокой плотности. Данная модель хорошо воспроизводит изменения рельефа поверхности мембраны липопротеинами

(Shih A.Y. et al. *J. Struct. Biol.* 2007, 157, 57992)



Крупнозернистые модели с сохранением радикалов (RBCG) и с сохранением формы (SBCG).

(A) Примеры крупнозернистых моделей (RBCG), (SBCG) и молекулярно-динамической модели целого атома (all-atom) для липида

Диолеилфосфатидилхолина (DOPC) и пептида AWLFV. (B) Модель SBCG для сегмента протеина

(C) вид сбоку и вид сверху модели SBCG небольшой мембранной заплатки DOPC

(D) мембрана DOPC, описываемая моделью целого атома, (RBCG) и (SBCG).

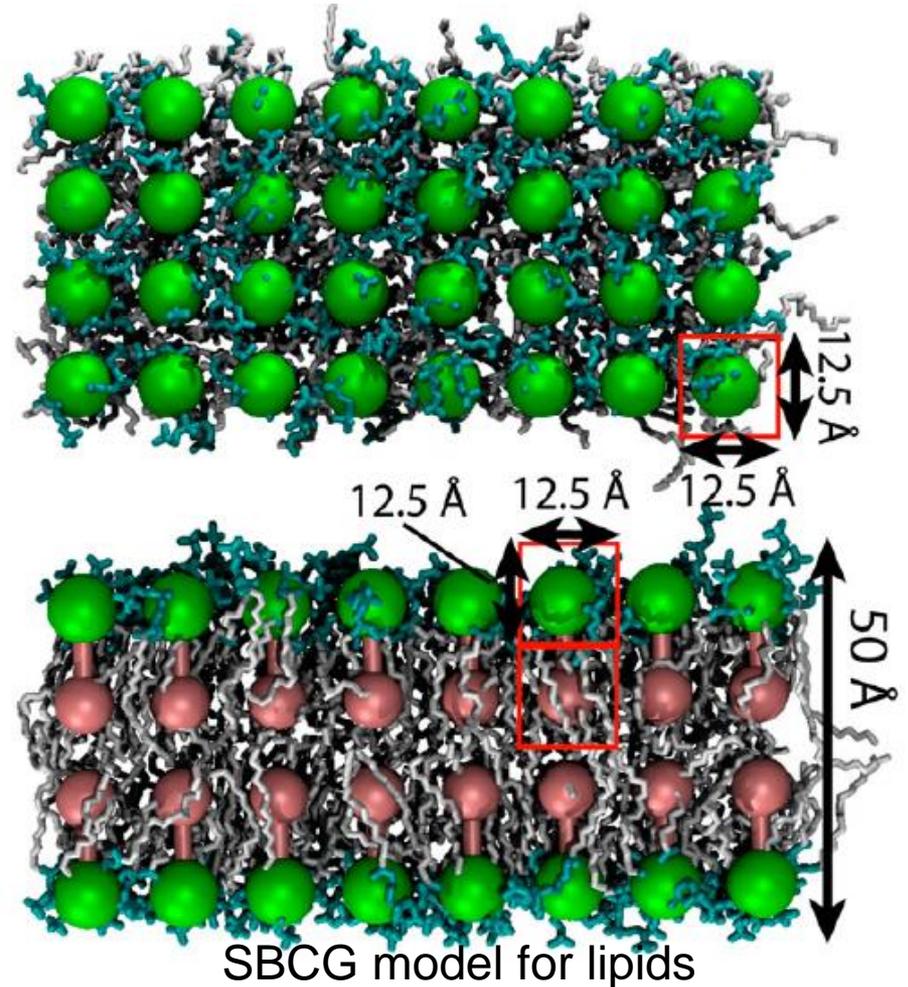
(E)-(G) область BAR, показанная сверху и сбоку в рамках модели целого атома, моделей (RBCG) и (SBCG)

Крупнозернистая модель с сохранением формы (SBCG)

Arkhipov A. et al. Biophys. J. 2008, 95, 280621.

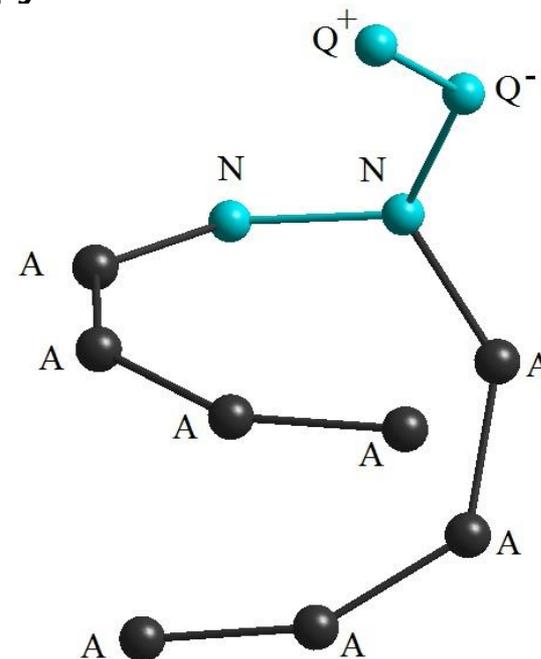
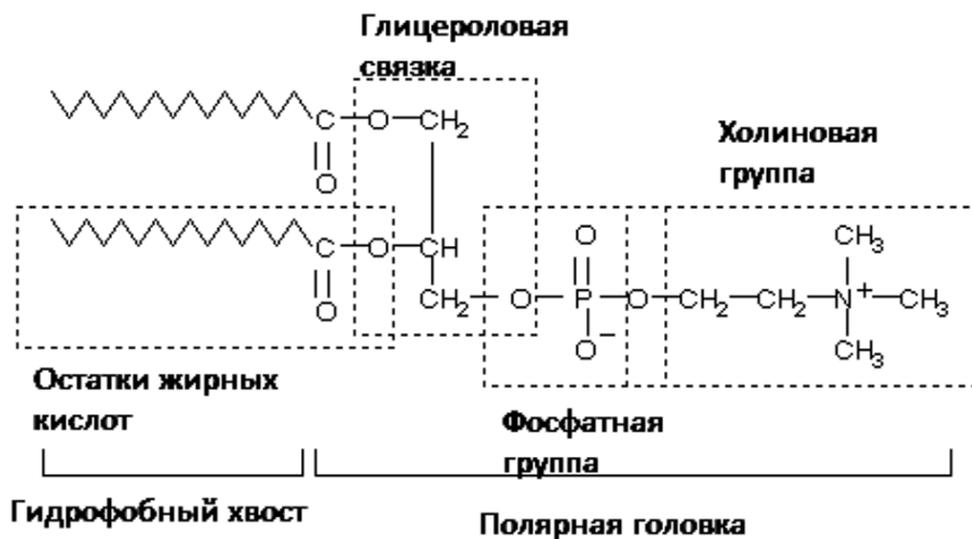
Крупнозернистая модель с сохранением радикалов (RBCG) используется для моделирования протеин-липидных систем. Крупнозернистая модель с сохранением формы (SBCG) используется для моделирования крупных макромолекулярных систем.

Метод крупнозернистого моделирования с сохранением формы (SBCG) был разработан для моделирования белков и их агрегатов, и был успешно применен для изучения вирусных капсидных белков и бактериальных жгутиков во временном масштабе десятки микросекунд и с соотношением 50 или 500 атомов, объединенных в крупнозернистую бусинку. Метод SBCG был модифицирован для описания липидных мембран. Взаимодействия между бусинками описываются с помощью силового поля CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics), т.е. связанные взаимодействия представлены потенциалами гармонической связи и валентных углов, а несвязанные взаимодействия описываются потенциалом Леннард-Джонса (LJ) 6-12 и Кулоновским потенциалом.



МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И ПОДВИЖНОСТИ ФОСФОЛИПИДНЫХ МОЛЕКУЛ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА УКРУПНЕННЫХ ЧАСТИЦ

О.Е. Глухова, Е.Л. Коссович - СГУ



Сложные липиды, сложные эфиры многоатомных спиртов и высших жирных кислот. Содержат остаток фосфорной кислоты и соединенную с ней добавочную группу атомов различной химической природы.

Нами применялись индивидуальные значения масс для каждого из вышеуказанных типов атомов: атом, обозначенный на рис.1 Q⁺, имеет массу 87,23 а.е.м., атом Q⁻ – 95,00 а.е.м., атом N – 71,08 а.е.м., атом A – 43,10 а.е.м. Из разброса атомов по массам уже следует, что ветви фосфолипидной молекулы, образованные атомами A, будут самыми подвижными.

Математическая модель

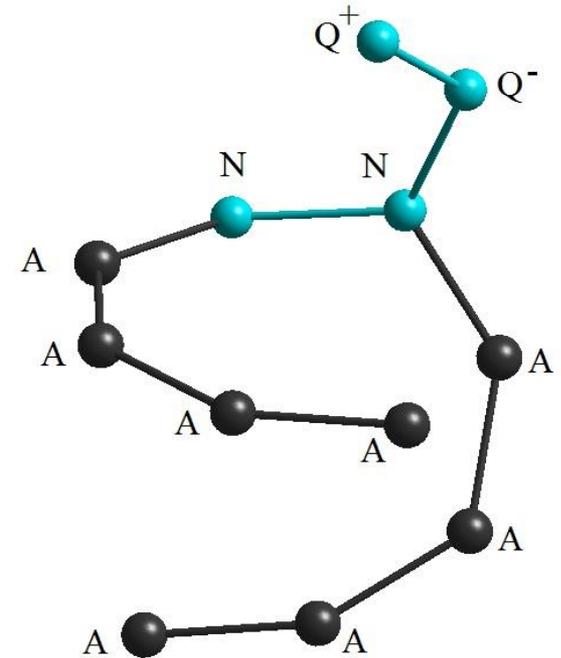
$$U = U_{bond} + U_{angle} + U_{tors} + U_{VdW} + U_{charge},$$

$$U_{bond} = \sum \frac{1}{2} K_r (r - r_{eq})^2,$$

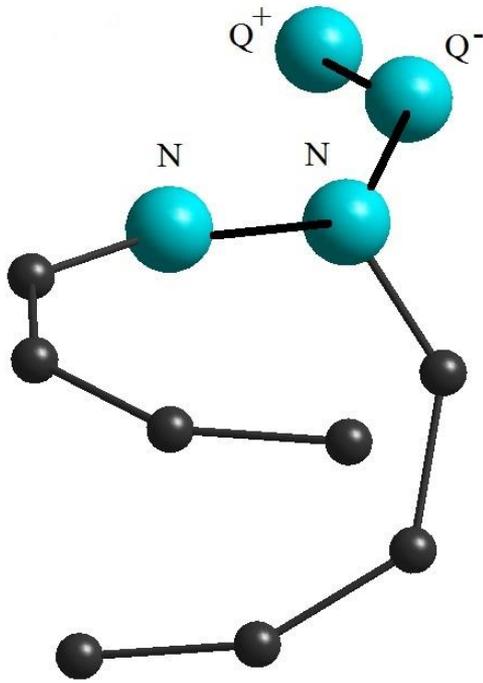
$$U_{angle} = \sum \frac{1}{2} K_{angle} (\cos(\theta) - \cos(\theta_{eq}))^2$$

$$U_{tors} = \sum \frac{1}{2} K_{tors} (1 + \cos(n\varphi - \delta))$$

$$U_{VdW} = \sum 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r} \right)^6 \right], \quad U_{charge} = \sum \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 \epsilon_r r}.$$



$q_i, q_j = \pm 0,7|e|$ в зависимости от знака заряда атома. Если виртуальная частица не заряжена, то $U_{charge} = 0$



3 типа крупнозернистых частиц:
 неполярные (N) массой 71,08 а.е.м.,
 аполярные (A), масса 43,10 а.е.м.
 заряженные (Q), подразделяется на
 2 подтипа в зависимости от заряда
 и группы:
 Q+, масса 87,23 а.е.м.,
 Q-, масса 95,00 а.е.м.

Как известно, поведение фосфолипидной молекулы в большой степени определяется температурой. Учет теплообмена системы с окружающей средой особенно важен при моделировании релаксации рассматриваемой системы, т.к. в случае установившегося термодинамического равновесия температура среды и системы должны совпадать. Энергообмен в молекулярной динамике может быть принят во внимание при помощи специального алгоритма – термостата. В таких алгоритмах температура системы вводится через удельное значение кинетической энергии

$$E = \frac{1}{2N} \sum_{n=1}^N m_n v_n^2,$$

где m_n – масса n -го атома системы, v_n – его скорость в текущий момент времени, N – число частиц в системе). Связь кинетической энергии и температуры T в статистической физике вводится следующим соотношением

$$E = \frac{3k_B T}{2}$$

где k_B – постоянная Больцмана.

Тогда значение температуры в процессе молекулярно-динамического моделирования имеет следующий вид:

$$T = \frac{1}{3Nk_B \tau} \int_{t_0}^{t_0+\tau} \sum_{n=1}^N m_n v_n^2 dt.$$

Условием практического равновесия является то, что энергия системы обычно меньше энергии термостата. Поэтому при молекулярно-динамическом моделировании обычно фиксируют температуру термостата, а температура системы может при этом изменяться.

Одним из наиболее часто используемых алгоритмов термостата является термостат Берендсена. Согласно уравнению Ландау-Теллера, отклонение температуры $T(t)$ от ее равновесного значения T_0 корректируется по следующему закону:

$$\frac{dT(t)}{dt} = \frac{T_0 - T(t)}{\tau}.$$

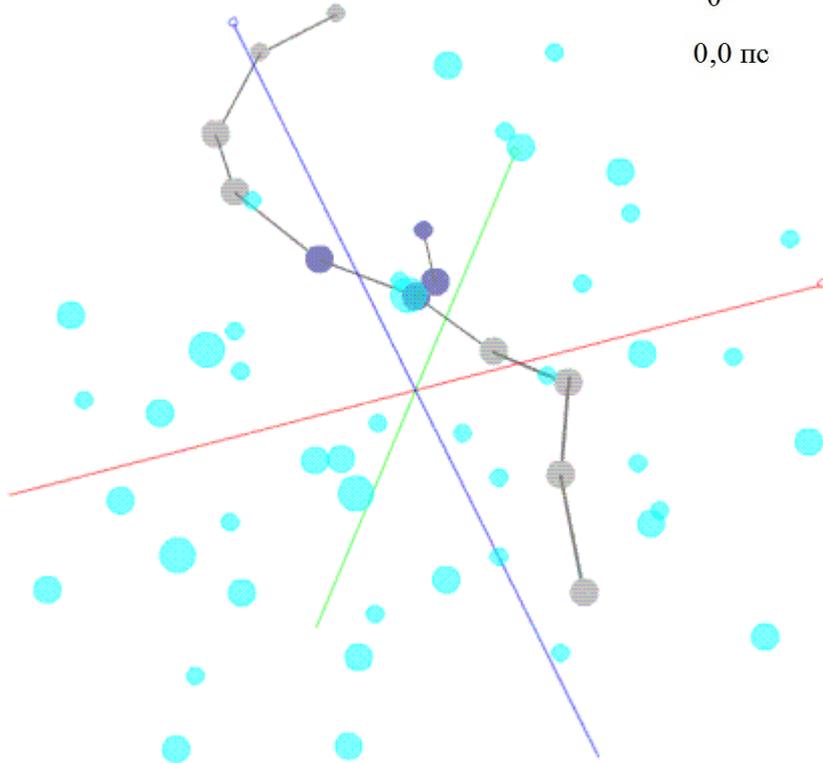
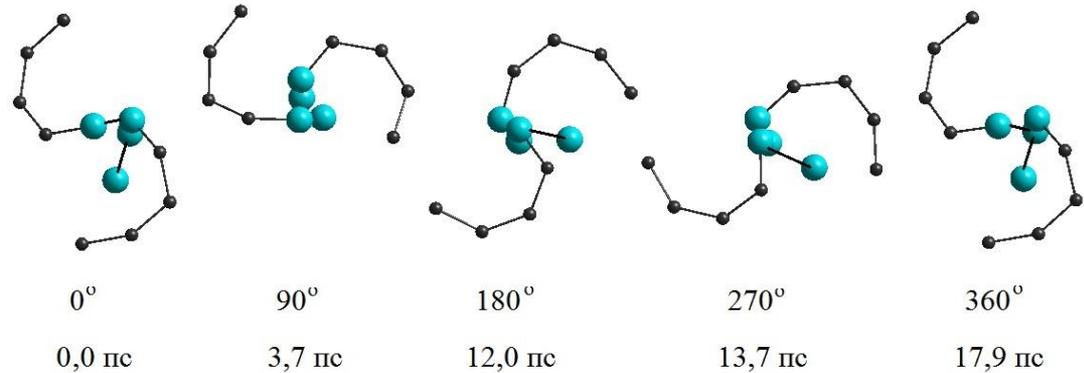
Следовательно, отклонения в значении температуры экспоненциально убывают с характерным временным промежутком τ . Используя закон изменения температуры (4), мы можем ввести масштабирующий коэффициент для скоростей атомов молекулярной системы, меняющийся на каждом шаге:

$$\lambda = \sqrt{1 + \gamma \left(\frac{T_0}{T(t)} - 1 \right)}.$$

Здесь γ – коэффициент трения, определяющий силу связи термостата с системой.

Динамика фосфолипидных молекул

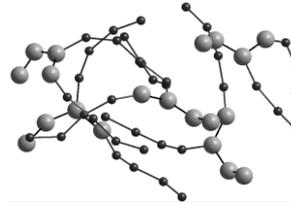
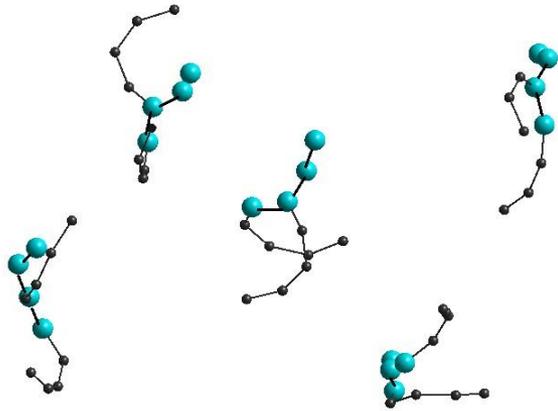
Вращение фосфолипидной молекулы, частота 1.2 ГГц при температуре 309К



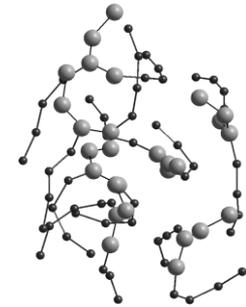
- 4 молекулы воды представлены в виде одного виртуального атома типа P (полярный, четвертый тип укрупненных частиц)
- Частота вращения фосфолипидной молекулы снизилась до 110МГц при температуре 309К
- Структура фосфолипида представляет собой спираль, имеющую две ветви, которая может быть описана как пружина с вычисленной жесткостью 27,68 кН/м.

Молекулярно-динамическое исследование структуры и подвижности фосфолипидных молекул с применением метода укрупненных частиц. О.Е. Глухова, И.В. Кириллова, Г.Н. Маслякова, Е.Л. Коссович. Российский журнал биомеханики – Т. 16, № 3 (57) – с. 8–15

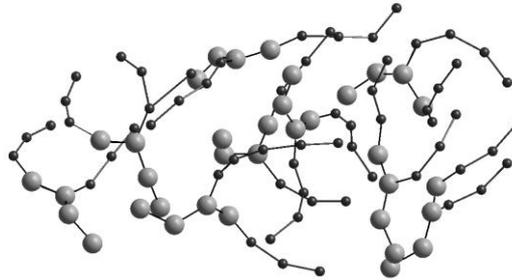
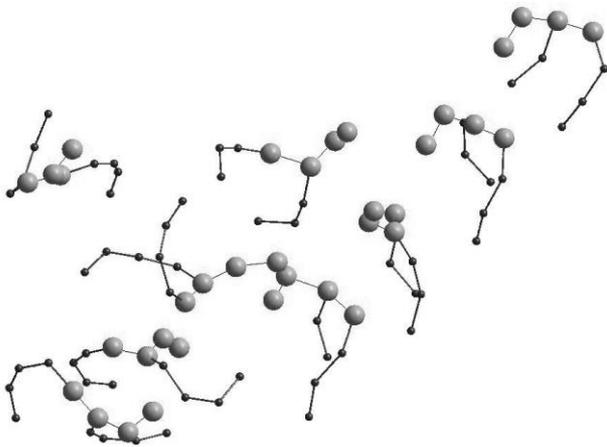
Исследование температурного эффекта процесса агрегации мицелл



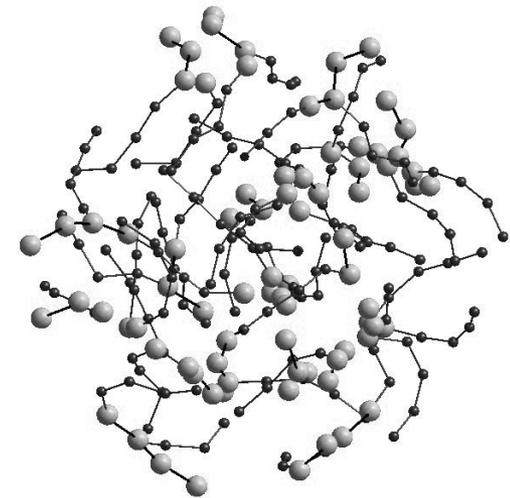
а)



б)



в)



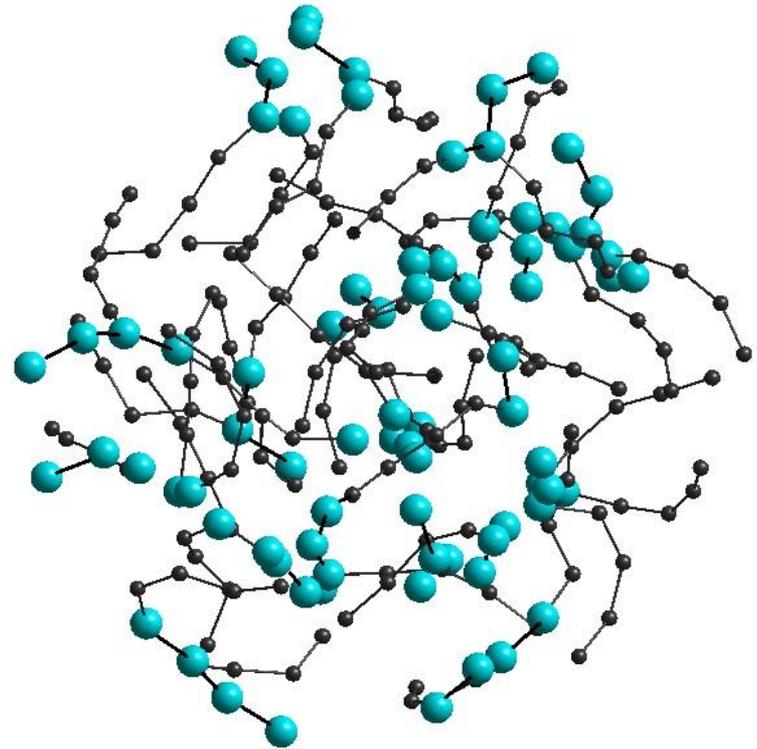
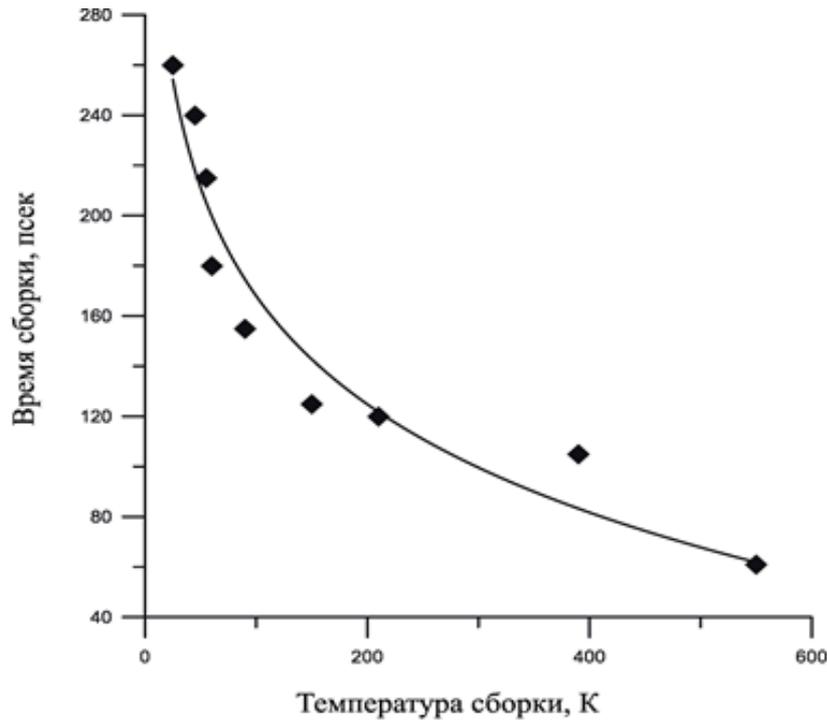
г)

В начальный момент распределение фосфолипидов друг относительно друга было равномерное. Расстояние между соседними молекулами варьировалось от 1.7 до 5 нм (на таком расстоянии между молекулами химического взаимодействия наблюдать не будет, так как оно возможно лишь при расстоянии 0,47 нм).

Мицеллы, образованные: а) 5 ДПФХ, б) 7 ДПФХ, в) 9 ДПФХ и г) 21 ДПФХ. $T = 309$ К. Время 0.1 нс. Сборка при исходном дистанцировании до 4 нм.

ДПФХ - дипальмитоилфосфатидилхолин

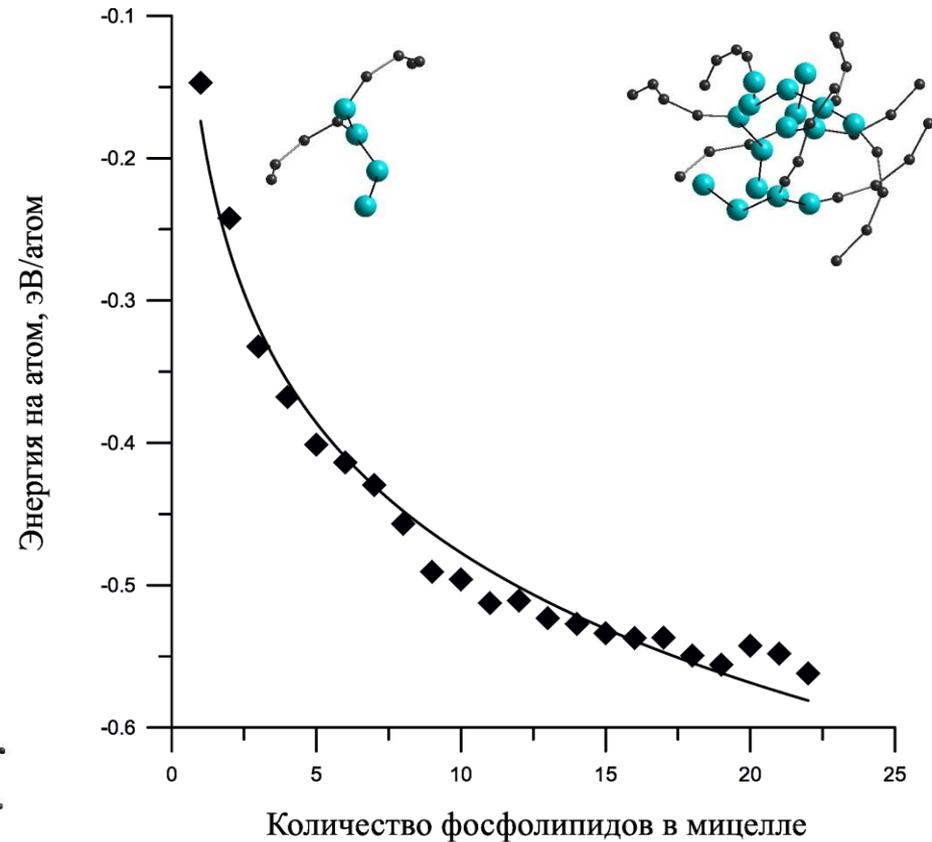
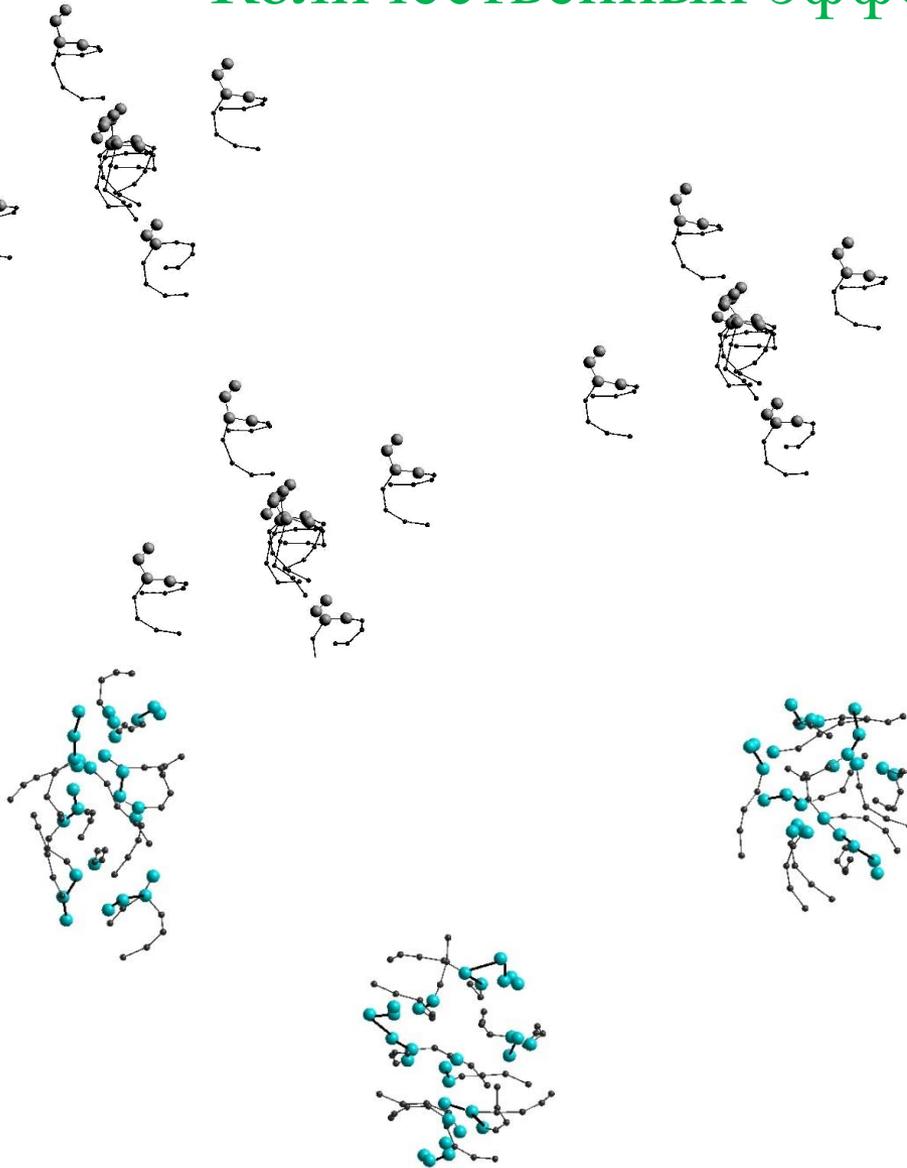
Влияние температуры



$$t = -62,2313 \ln(T) + 454,54958,$$

Процесс агрегации фосфолипидов в мицеллы. Время сборки не зависит от количества фосфолипидов, а только от температуры. При температуре 309К время сборки составляет 0.1 нсек

Количественный эффект



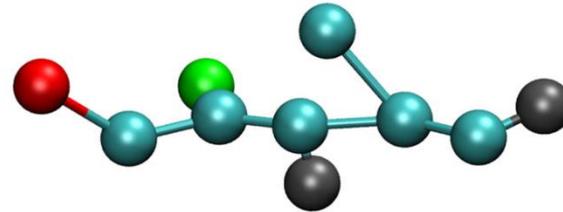
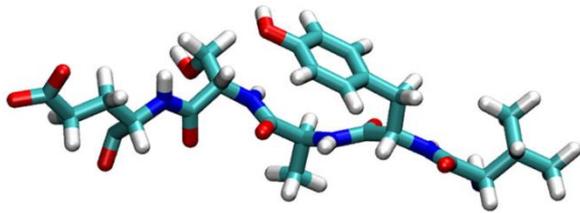
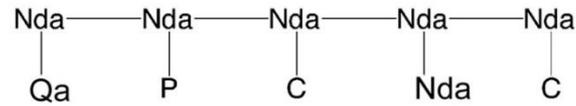
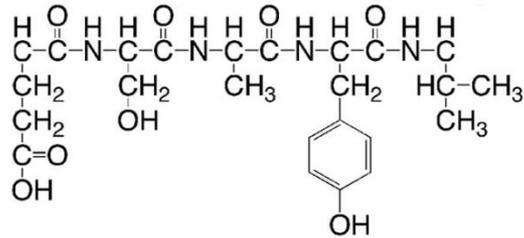
$$E_a = -0,132 \ln(N) - 0,174,$$

Мицеллы, содержащие 11 и более молекул фосфолипидов, будут устойчивы к температурному влиянию и внешним механическим воздействиям

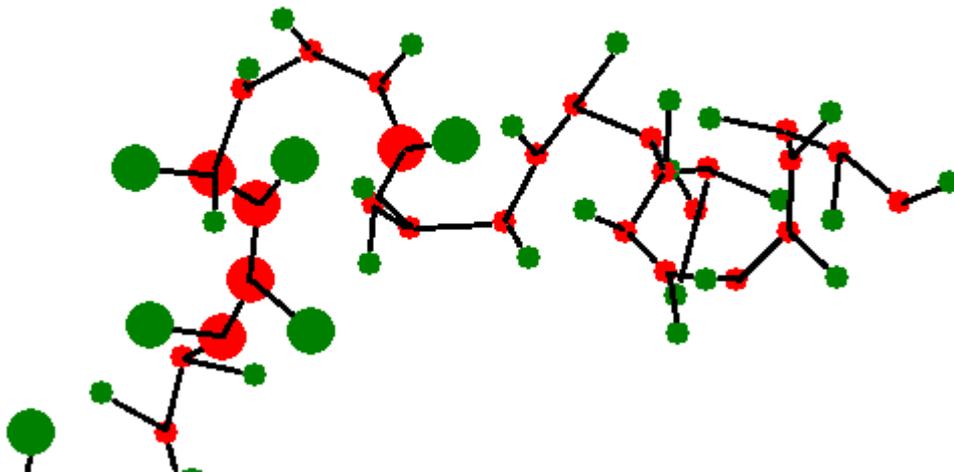
Теоретическое исследование закономерностей процесса агрегации мицелл из фосфолипидов.

О.Е. Глухова, И.В. Кириллова, Г.Н. Маслякова, Е.Л. Коссович. Российский журнал биомеханики – Т. 16, № 3 (57) – с. 16-24

Крупнозернистая модель протеинов

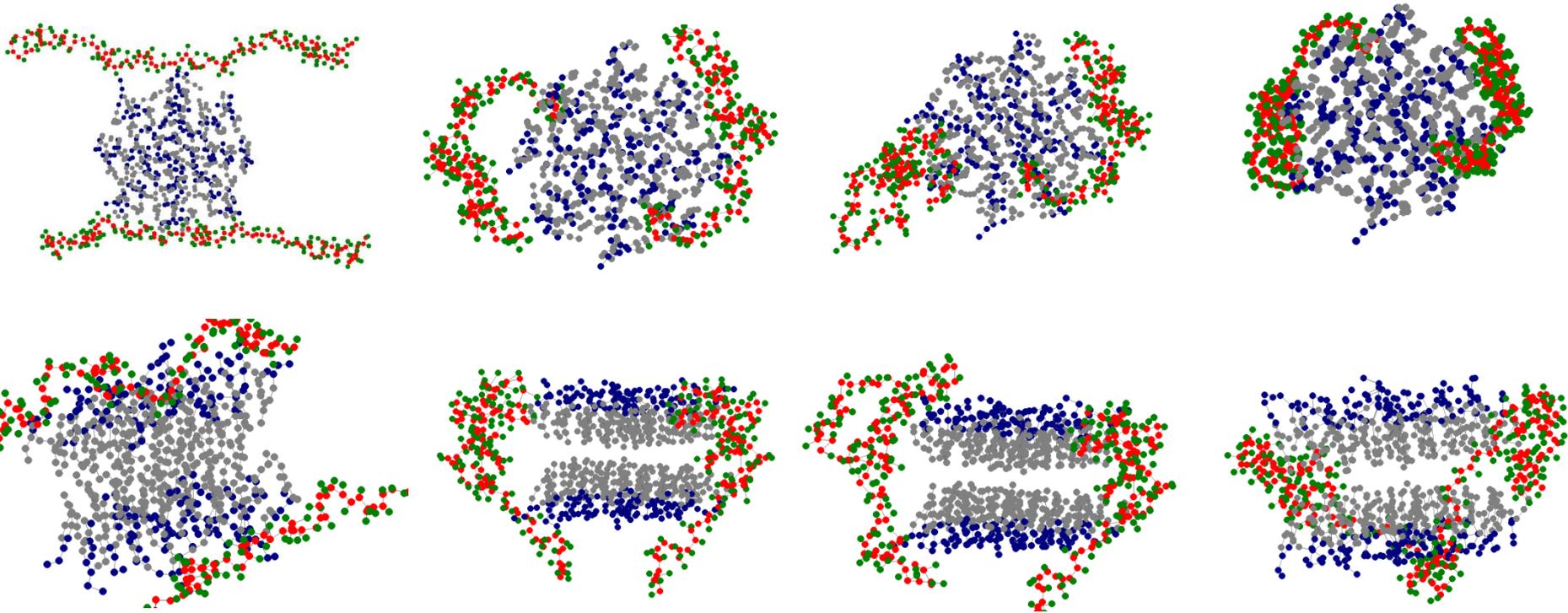


Белковые, как правило амфифильные, составляющие липопротеинов, специфически связывающиеся с соответствующими липидами при формировании липопротеиновой частицы



Спиралевидная структура протеина.

Самосборка липопротеида высокой плотности



Начальный этап

20 нс

60 нс

270 нс

Параметры для синей части (головы фосфолипидов): коэфф. Пуассона для всех принимается 0.5 Модуль Юнга $105\,730.183\text{ Н/м}^2$,

Для хвостов (серый слой - хвосты фосфолипидов) - Модуль Юнга $73\,651.844\text{ Н/м}^2$

Для боковых слоев (красно-зеленые - протеины) - Модуль Юнга $98\,281.752\text{ Н/м}^2$

