

МОЛЕКУЛЯРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ИНГИБИРОВАНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ α -ТОКОФЕРОЛОМ

Новикова П. Ю., Красильников П. М.

Методом молекулярной динамики исследовано взаимодействие между пероксильным радикалом в составе фосфолипида и α -токоферолом в мембране. Показано, что сокращение расстояния между активными участками данных молекул, необходимое для протекания реакции, осуществляется при поднятии окисленного жирнокислотного остатка липида к поверхности мембраны и погружении α -токоферола в гидрофильный слой мембраны. Выяснено, что конформационное состояние липида с поднятым окисленным жирнокислотным остатком является энергетически выгодным. В модельной системе показано формирование водородной связи между гидроксильной группой хроманольного кольца α -токоферола и карбоксильной группой соседнего фосфолипида

Введение. Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), инициаторами которого являются свободные радикалы, приводит к изменению физиологических параметров мембран, их барьерных и структурных функций, а также нарушает регуляцию внутриклеточных процессов. Это приводит к различным клеточным патологиям и повышает риск возникновения ряда заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, болезнь Альцгеймера, атеросклероз, болезнь Паркинсона, кроме того, перекисное окисление участвует в процессе старения организма. Предотвращение и ингибирование данного процесса осуществляется с помощью антиоксидантной системы, путем инактивации инициаторов или обрыва цепных реакций ПОЛ.

В данной работе изучается механизм взаимодействия естественного мембранного антиоксиданта α -токоферола и окисленного липида с пероксильным радикалом в составе одного из жирнокислотных остатков (линолеил-11-перокси-октадекадиенил-7,9-фосфатидилхолин). В процессе реакции происходит перенос атома водорода с гидроксильной группы хроманольного кольца токоферола на пероксильный радикал, при этом реагирующие участки молекул должны находиться в непосредственной близости друг от друга. Пероксильная группа находится преимущественно на середине длины жирнокислотного остатка липида, что обусловлено расположением двойных связей, которые легче подвергаются атаке свободных радикалов. Хроманольное кольцо токоферола является гидрофильным, следовательно располагается в полярной области мембраны. При таком положении молекул в мембране, расстояние между реагирующими участками существенно превышает допустимое для протекания реакции.

Поэтому изучение расположения молекул в мембране, при котором расстояние между пероксильным радикалом и гидроксильной группой удовлетворяет возможности переноса атома водорода, необходимо для понимания механизма реакции.

Появление полярных окисленных функциональных групп в жирнокислотном остатке мембранного липида может приводить к конформационным перестройкам в его структуре. Существует предположение, что окисленный жирнокислотный остаток ли-

пида перемещается к гидрофильной области, т.е. изгибается к поверхности мембраны, что приведет к сокращению расстояния до гидроксильной группы токоферола [1-3]. Основанием такому предположению послужило, например, эффективное действие водных синтетических антиоксидантов (Trolox, MDL73404), непроникающих в мембрану, при инициации ПОЛ внутри гидрофобного слоя липосомных мембран.

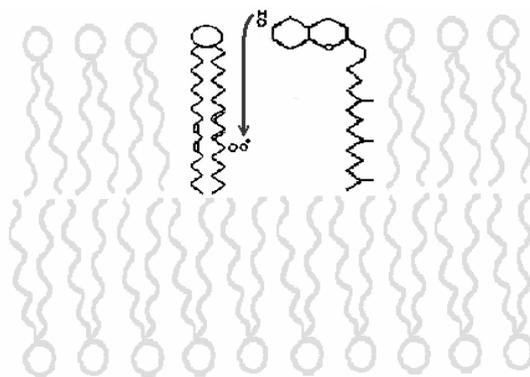


Рис. 1. Схема переноса атома водорода с хроманольной группы токоферола на пероксильный радикал липида

Точное расположение токоферола в мембране так же не является окончательно выясненным. Результаты некоторых экспериментов показывают, что хроманольное кольцо токоферола в мембране находится на уровне 2-7 углеродных атомов жирнокислотных остатков фосфолипидов и, может быть, расположено параллельно (рис. 2), так и нормально (рис.3) плоскости мембраны [4].

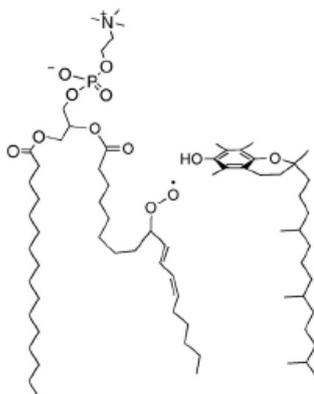


Рис. 2. Окисленный липид с поднятым жирнокислотным остатком и α -токоферол с расположенным хроманольным кольцом параллельно плоскости мембраны [4]

Так же обсуждается вопрос формирования водородных связей в системе токоферол – фосфолипиды [1]. Исходя из анализа химической структуры этих молекул, наиболее вероятно образование таких связей между гидроксильной группой токоферола и либо карбоксильной группой, либо кислородом фосфора фосфолипида (рис. 3). Тот или иной вариант водородной связи будет говорить о различной глубине погружения хроманольного кольца токоферола в гидрофобный слой мембраны.

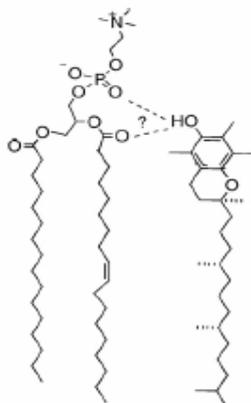


Рис. 3. Наиболее вероятные водородные связи в системе фосфолипид- α -токоферол [1]

В целом, выделяются два сценария сокращения расстояния между реагирующими участками молекул: поднятие жирнокислотного остатка и/или погружение токоферола вглубь мембраны (рис. 4).

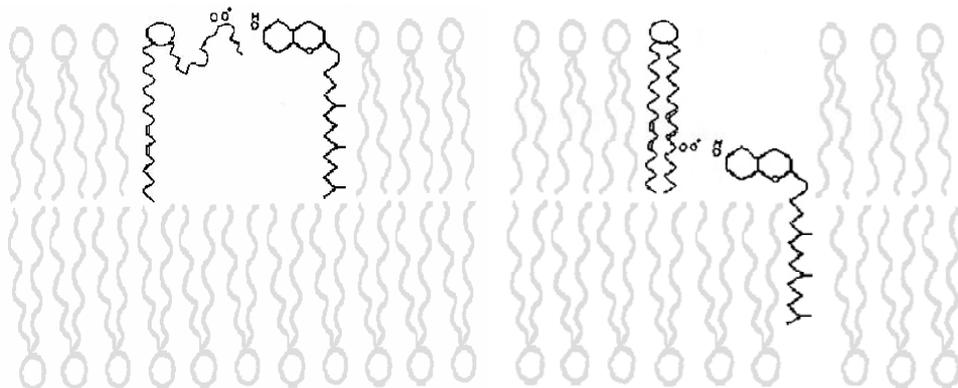


Рис. 4. Схема основных механизмов сокращения расстояния между пероксильным радикалом липида и гидроксильной группой α -токоферола

Исследование динамического поведения описанной системы, является целью данной работы.

Материалы и методы. Метод молекулярной динамики реализуется программным пакетом Gromacs. Используемый интегратор во всех расчетах – sd (стахостическая динамика). Шаг интегрирования составляет 0.25 фс. Поддержание постоянной температуры в системе реализуется термостатом Берендсена. Для уменьшения краевых эффектов в полной системе применены периодические граничные условия. Выходные значения координат, скоростей, сил, энергий записываются на каждом 400 шаге расчета. Во всех расчетах используется полноатомное силовое поле OPLS-AA.

Моделируемая система состоит из трех основных структур: липидной мембраны, молекулы окисленного липида и молекулы α -токоферола. Все подсистемы являются полноатомными молекулярными структурами. Модель билипидной мембраны представлена Д.В.Зленко [5], включает 46 молекул дистеароилфосфатидилхолина (ДСФХ), 1645 молекул воды tip4r. Топологии молекул окисленного липида и токоферола были приготовлены с помощью программ GAMESS и GROMACS, что включает вычисление

парциальных зарядов, жесткостей валентных связей, валентных углов и торсионных углов.

Были исследованы свойства отдельных молекул окисленного липида и токоферола, в том числе с использованием неравновесной молекулярной динамики. Расчеты для одиночной молекулы окисленного липида (рис. 5) проводились в двух вариантах:

1. При фиксации атома азота в составе холиновой группы липида прикладывается внешняя сила к пероксильной группе в направлении головы липида. Расчеты производятся при низких температурах.
2. Без применения внешних сил, при температуре 300К.

Длины траекторий таких расчетов составляют 1нс, исключены вращение и параллельный перенос относительно центра масс системы.

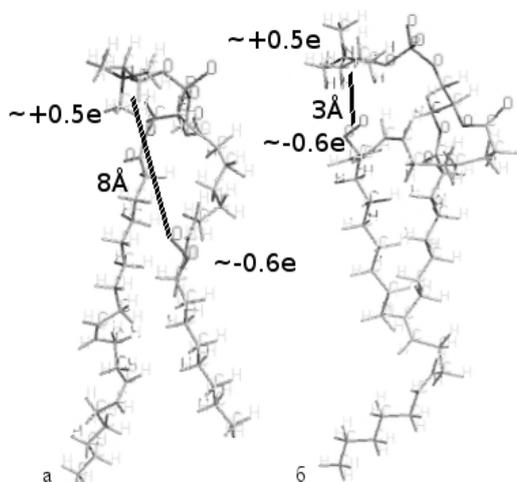


Рис. 5. Конформационные состояния окисленного липида с опущенным (а) и поднятым (б) жирнокислотным остатком соответственно

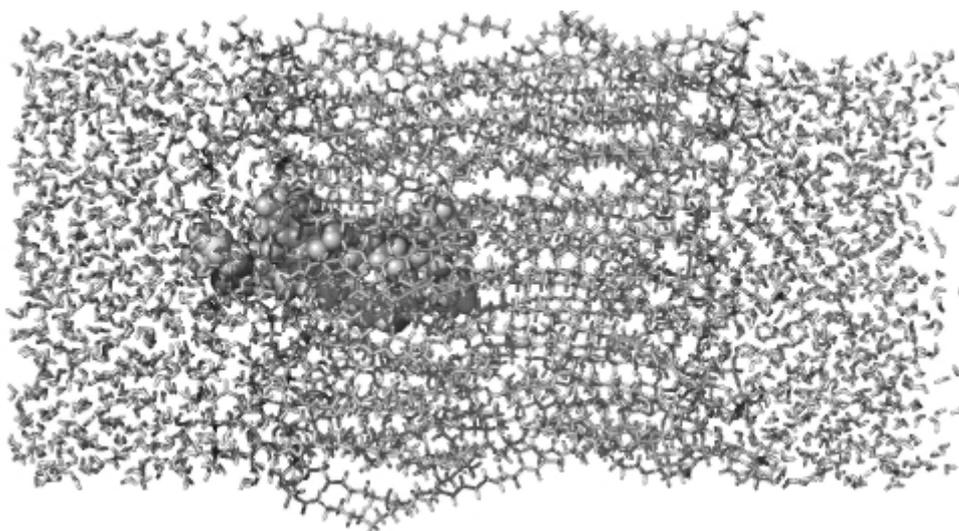


Рис. 6. Полная исследуемая система. Окисленного липида выделен темными сферами, α -токоферола выделен светлыми сферами

Молекулярная динамика полной исследуемой системы, включающей мембрану, молекулу окисленного липида и молекулу α -токоферола (рис. 6) проводилась без применения внешних сил при температуре 300К. Длина посчитанной траектории с шагом 0.25 фс составляет 1 нс.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований свойств одиночного окисленного липида для первого типа расчетов представлены на рис. 7: при $T=0\text{K}$, ускорении в 3 нм/пс^2 (рис. 7а) и при $T=50\text{K}$, ускорении 1 нм/пс^2 (рис. 7б).

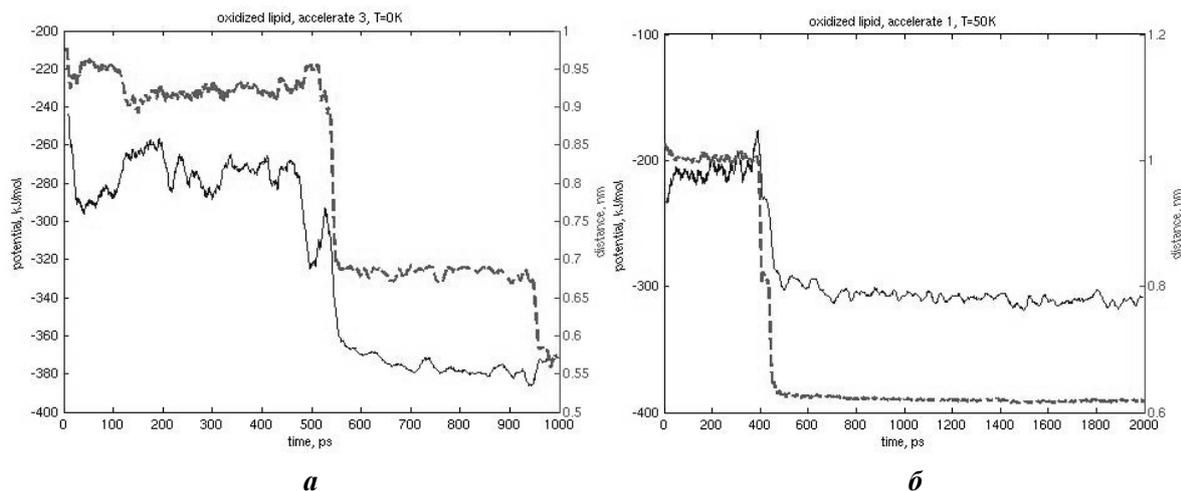


Рис. 7. Потенциальная энергия системы – сплошная линия, расстояние от кислорода пероксильной группы до азота холиновой группы головы липида – пунктирная линия. **а)** $T=0\text{K}$, ускорение 3 нм/пс^2 . **б)** $T=50\text{K}$, ускорение 1 нм/пс^2

Из приведенных выше рисунков видно, что существует явная корреляция между сокращением расстояния от пероксильной группы до головы липида и падением общей энергии, что говорит о наличии локального минимума энергии в состоянии поднятого окисленного жирнокислотного остатка. Значение средней величины ступеньки энергии (рис. 7) составляет примерно 1эВ . Эта энергия обуславливается электростатическими взаимодействиями парциальных зарядов системы.

Второй тип расчетов для одиночного окисленного липида, т.е. без применения внешних сил и при $T=300\text{K}$, показал, что исследуемая молекула может переходить в конформационное состояние с поднятым окисленным жирнокислотным остатком самопроизвольно. Это является дополнительным указанием на наличие локального минимума в такой конформации.

Аналогичные расчеты для одиночной молекулы токоферола показали, что ее преимущественной конформацией является вытянутая (рис. 3), а не изогнутая форма (рис. 2).

При расчете молекулярной динамики полной системы стартовые положения окисленного липида и α -токоферола в мембране были выбраны таким образом, что эти молекулы находились уже в непосредственной близости друг к другу. При этом хроманольное кольцо токоферола располагается в полярной области мембраны, а окисленный жирнокислотный остаток выпрямлен и располагается в гидрофобном слое мембраны. (рис. 8а).

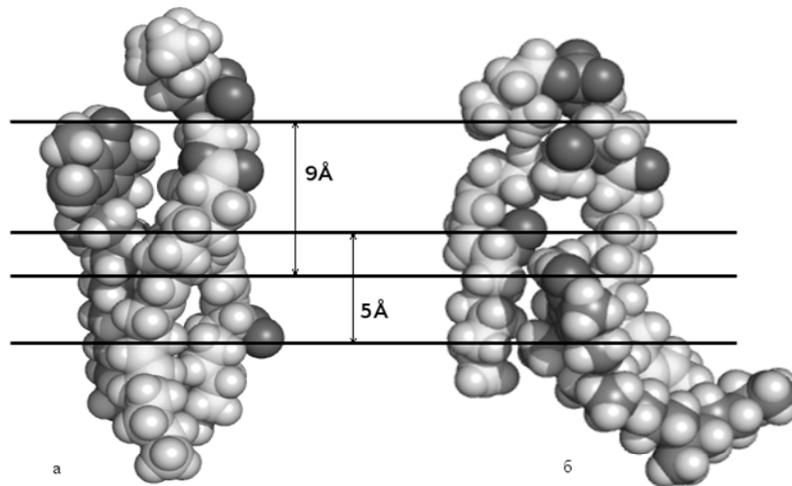


Рис. 8. а) Стартовые положения окисленного липида и токоферола в мембране. Хроманольное кольцо токоферола располагается в полярной области мембраны, окисленный жирнокислотный остаток выпрямлен и располагается в гидрофобном слое мембраны. б) Конечные положения окисленного липида и α -токоферола в мембране. Хроманольное кольцо токоферола располагается в гидрофобном слое мембраны, окисленный жирнокислотный остаток поднят к полярной области мембраны

Молекулярная динамика полной системы показала, что происходит одновременное движение окисленного жирнокислотного остатка к поверхности мембраны и погружение молекулы α -токоферола вглубь мембраны (рис. 8б). Такое поведение системы говорит об одновременном осуществлении обоих предположенных сценариев сокращения расстояния между реагирующими частями молекул. Смещение пероксильной группы относительно стартового положения в направлении к поверхности мембраны составило примерно 5 \AA , а хроманольное кольцо токоферола погрузилось примерно на 9 \AA .

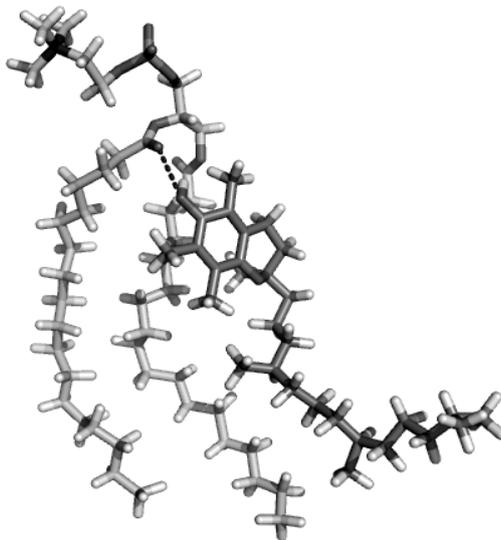


Рис. 9. Образование водородной связи между ОН группой хроманольного кольца α -токоферола и С=О группой ДСФХ

Кроме того, обнаружено образование водородной связи между гидроксильной группой хроманольного кольца токоферола и карбоксильной группой соседнего не окисленного фосфолипида, длиной примерно 2.9Å (рис. 9). Образование такой водородной связи указывает на энергетическую выгодность частичного погружения хроманольного кольца молекулы токоферола в гидрофобный слой фосфолипидной мембраны.

Заключение. Проведенное исследование представленной модельной системы показало, что сближение реагирующих участков окисленного липида и α -токоферола происходит самопроизвольно. Сокращение расстояния между активными участками происходит путем поднятия окисленного жирнокислотного остатка липида к гидрофильной поверхности мембраны и погружения α -токоферола в гидрофобный слой мембраны. Так же в результате численного эксперимента установлено образование водородной связи между гидроксильной группой хроманольного кольца α -токоферола и карбоксильной группой соседнего (неокисленного) фосфолипида.

Образование гидропероксильной группы из пероксильного радикала в составе мембранного липида в процессе реакции токоферола и окисленного липида может приводить не только в терминации цепной реакции перекисного окисления, но и к ее разветвлению. Для полного прекращения процесса ПОЛ необходимо исключить гидропероксильную группу из состава мембраны. Удаление этой группы осуществляется с помощью специальных ферментов. Моделирование этого процесса является следующей задачей нашего исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jirasak Wong-ekkabuta, Zhitao Xub, Wannapong Triampo, I-Ming Tanga, D. Peter, Tielemanb, Luca Monticellib.* Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study // *Biophys. J.* 2007. Vol. 93.P. 4225-4236.
2. *L.Ross, C.Barclay, Melinda R. Vinqvist.* Membrane peroxidation: inhibiting effects of water-soluble antioxidants on phospholipids of different charge types // *Free Radic. Biol. And Med.* 1994. Vol. 16. P 779-788.
3. *Albert W. Girotti.* Translocation as a means of disseminating lipid hydroperoxide-induced oxidative damage and effector action // *Free Radic. Biol. And Med.*2008. Vol. 44. P. 956-968.
4. *Jeffrey Atkinson, Raquel F. Epand, Richard M. Epand.* Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review // *Free Radic. Biol. And Med.*. 2008 Vol. 44. P. 739-764.
5. Зленко Д.В., Красильников П.М. *Построение молекулярной модели фрагментов липидной мембраны в гелевом и жидкокристаллическом состоянии* // Вестник МГУ, серия физика и астрономия (в печати).

MOLECULAR MODELING OF LIPID PEROXIDATION INHIBITION BY α -TOCOPHEROL

Novikova P. Y., Krasilnikov P. M.

Molecular dynamics studies of interaction of oxidized lipid and α -tocopherol in membrane is considered. Reduction of distance between active sites of two molecules (that allows the reaction to proceed) is achieved when oxidized lipid tail bends forward to membrane surface and tocopherol goes into the hydrophobic membrane layer. There is an energetic steady state in lifted oxidized tail conformation of phospholipids. In the model system it was showed that hydrogen bond is formed between hydroxyl group of α -tocopherol's chromanol ring and carboxyl group of phospholipid