



Evaluación del comportamiento del colesterol en una bicapa lipídica de DPPC y DPPS usando dinámica molecular

Assessment of cholesterol behavior in a lipid bilayer of DPPC and DPPS using molecular dynamics

Avaliação do comportamento do colesterol em uma bicamada lipídica de DPPC e DPPS usando dinâmica molecular

Katherine Estefany Venegas-Guaman ^I
ktvenegas02@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0801-5525>

Dalinda Ilena Quingatuña-Cali ^{II}
dquingatuna@epoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-0105-0555>

Rosa Maricela Ormaza-Hugo ^{III}
rormaza@epoch.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-1917-5084>

Correspondencia: ktvenegas02@gmail.com

Ciencias de la Salud
Artículo de investigación

***Recibido:** 18 de mayo de 2020 ***Aceptado:** 20 de junio de 2020 * **Publicado:** 22 de julio de 2020

- I. Biofísica, Oficial de Seguridad Radiológica, SUREDIAGNOSTICS CIA. LTDA, Investigadora independiente, Quito, Ecuador.
- II. Biofísica, Docente, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- III. Máster Universitario en Física, Biofísica, Grupo de Investigación de Materiales Especiales, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Resumen

Se utilizó Charmm-GUI para construir cinco modelos moleculares de bicapas lipídicas que contienen 200 lípidos de Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y Dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS) con concentraciones de colesterol (CHL1) de 0, 15,30,50 y 70% para evaluar el comportamiento no ideal (efecto de condensación). Se realizaron una serie de simulaciones de Dinámica Molecular usando Gromacs, a través de la minimización de energía y el equilibramiento de los sistemas moleculares usando ensambles NVT y NPT a una temperatura de 315K para un total de 10ns. Se determinaron las variables: área molecular, tensión superficial y elasticidad de Gibbs para cada modelo. Asimismo, se evaluó la elasticidad de Gibbs dando como resultado rigidez en la bicapa cuando esta tiene 70% de colesterol en su composición. El sistema con mayor flexibilidad fue la bicapa lipídica con 30% de colesterol. El comportamiento de la presión superficial y elasticidad de Gibbs de las simulaciones con respecto a los resultados experimentales son semejantes, demostrando el comportamiento no ideal del colesterol frente a los fosfolípidos afectando las propiedades de las bicapas lipídicas y por ende la funcionalidad de las células.

Palabras claves: Modelos moleculares; dinámica molecular; DPPC y DPPS; biofísica.

Abstract

Charmm-GUI was used to construct five molecular models of lipid bilayers containing 200 lipids of Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) and Dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS) with cholesterol concentrations (CHL1) of 0, 15,30,50 and 70% to evaluate the behavior no ideal (condensation effect). A series of Molecular Dynamics simulations were performed using Gromacs, through energy minimization and balancing of molecular systems using NVT and NPT assemblies at a temperature of 315K for a total of 10ns. Variables were determined: molecular area, surface tension and Gibbs elasticity for each model. Also, the elasticity of Gibbs was evaluated, resulting in stiffness in the bilayer when it has 70% cholesterol in its composition. The system with the greatest flexibility was the lipid bilayer with 30% cholesterol. The behavior of the surface pressure and Gibbs elasticity of the simulations with respect to the experimental results are similar, demonstrating the non-ideal behavior of cholesterol against phospholipids, affecting the properties of lipid bilayers and therefore the functionality of cells.

Keywords: Molecular models; molecular dynamics; DPPC and DPPS; biophysics.

Resumo

A Charmm-GUI foi utilizada para construir cinco modelos moleculares de bicamadas lipídicas contendo 200 lipídios de Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) e Dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS) com concentrações de colesterol (CHL1) de 0, 15,30,50 e 70% para avaliar o comportamento não ideal (efeito de condensação). Uma série de simulações de Dinâmica Molecular foi realizada usando Gromacs, através da minimização de energia e balanceamento de sistemas moleculares usando conjuntos NVT e NPT a uma temperatura de 315K por um total de 10ns. As variáveis foram determinadas: área molecular, tensão superficial e elasticidade de Gibbs para cada modelo. Além disso, foi avaliada a elasticidade de Gibbs, resultando em rigidez na bicamada quando possui 70% de colesterol em sua composição. O sistema com maior flexibilidade foi a bicamada lipídica com 30% de colesterol. O comportamento da pressão superficial e da elasticidade de Gibbs das simulações em relação aos resultados experimentais é semelhante, demonstrando o comportamento não ideal do colesterol contra os fosfolipídios, afetando as propriedades das bicamadas lipídicas e, portanto, a funcionalidade das células.

Palavras-chave: Modelos moleculares; dinâmica molecular; DPPC e DPPS; biofísica.

Introducción

El colesterol como componente de la membrana incide en su fluidez, a medida que la concentración aumenta o disminuye existen cambios en las propiedades de las membranas. Asimismo, influye sobre la estructura y la dinámica de las bicapas lipídicas. El estudio de este fenómeno denominado comportamiento no ideal de las capas lipídicas tiene gran importancia para comprender diversos procesos biológicos. (Venegas,2018).

A partir del año 1925, se realizaron estudios experimentales con respecto a la influencia fisiológica del colesterol en la modificación del comportamiento de la lecitina, en películas que contenían una solución de ambas sustancias. Se observó un comportamiento no ideal, donde el área molecular disminuye en presencia del colesterol (Leathes, 1925). Este comportamiento no ideal se denomina efecto de condensación y ha sido investigado por muchos años para comprender mecanismos como la fluidez de la membrana y la modulación de la función de las proteínas de membrana debido a su relación con la importancia del colesterol (McConnell et al., 2003).

Por otra parte, la Dinámica Molecular es un tipo de simulación molecular computacional que permite analizar el comportamiento o evolución de un sistema (físico, químico o biológico) a través del tiempo (Lozano Aponte et al., 2014), para generar las trayectorias de un sistema compuesto de N partículas por integración numérica directa de las ecuaciones de movimiento de Newton, con especificaciones de un potencial de interacción inter-atómico de condiciones iniciales y de frontera adecuadas. MD es un método de modelado y simulación a nivel atómico cuando las partículas en cuestión son los átomos que constituyen el material o sistema de estudio (Cai et al., 2012). En cuanto a las simulaciones de Dinámica molecular es resolver las ecuaciones del movimiento para así obtener una trayectoria del sistema en función del tiempo. Para calcular las posiciones y velocidades de cada átomo en un instante de tiempo se usa algoritmos numéricos (numerical integrators). Los más utilizados son el algoritmo del salto de rana (leapfrog algorithm) y el algoritmo de velocidad-Verlet (velocity Verlet algorithm) (Serrano, 2013).

Con estos antecedentes, este artículo presenta la Evaluación del comportamiento no ideal de una bicapa lipídica de DPPC y DPPS con diferentes concentraciones de Colesterol usando Dinámica Molecular.

Metodología

Mediante una metodología experimental se construyeron modelos moleculares utilizando una interfaz gráfica en la web CHARMM-GUI, que es un software especializado para la dinámica y mecánica de sistemas macro-moleculares, el cual permitió generar varios sistemas para la simulación molecular con sus respectivos archivos de entrada para agilizar y facilitar el uso de técnicas de simulación comunes y avanzadas. Dentro de esta interfaz se encuentra una herramienta para la construcción de bicapas lipídicas llamada Membrane Builder que genera una serie de entradas para la construcción de complejos proteína/membrana y membranas solas para la simulación de MD.

Del mismo modo, la Dinámica Molecular de los modelos moleculares se realizó en GROMACS (<http://www.gromacs.org/>). Un software open source que opera mediante líneas de comando y usa archivos de entrada y salida. Además, soporta diferentes campos de fuerzas por lo que hace que Gromacs sea muy flexible. Trabaja con campos de fuerza CHARMM, AMBER, GROMOS, etc. Tiene varias herramientas para el análisis de los resultados obtenidos durante la simulación.

Asimismo, para la visualización de los modelos moleculares se utilizó el software VMD que permite visualizar, animar y analizar grandes sistemas biológicos utilizando gráficos en 3D. Es compatible con GROMACS y provee de una gama de representaciones para los átomos del sistema.

Una herramienta que se puede ejecutar dentro del entorno de VMD para el análisis de simulaciones de bicapas lipídicas es Membrapugin, Mediante algoritmos se puede medir un conjunto de propiedades bio-físicas de las membranas simuladas. (Baez,2014).

Construcción y dinámica molecular de modelos moleculares

Los sistemas de bicapa de lípidos se construyeron usando Membrane Builder de CHARMM-GUI, siguiendo los pasos a continuación listados:

Determinación del tamaño del sistema: Se estableció el tamaño y forma del sistema, el número y tipo(s) de lípido(s) para el sistema, y el número de moléculas de agua. Se estableció la forma de la caja rectangular. Se colocaron un total de 200 moléculas de lípidos distribuidos en la capa superior e inferior de la bicapa lipídica. El número de lípidos que se colocó en cada sistema se muestran en la Tabla1. Se estableció que por cada molécula de lípido se añade 25 moléculas de agua (TIP3) para solvatar el sistema.

Tabla 1: Número de moléculas de lípidos

	Modelos moleculares				
	80%DPPC- 20%DPPS	68%DPPC- 17%DPPS- 15%CHL1	56%DPPC- 14%DPPS- 30%CHL1	40%DPPC- 10%DPPS- 50%CHL1	24%DPPC- 06%DPPS- 70%CHL1
DPPC	160	136	112	80	48
DPPS	40	34	28	20	12
CHL1	00	30	60	100	140
TOTAL	200	200	200	200	200

Fuente: Autores, 2018

Generación de componentes: Se generaron una cantidad de iones especificados. La configuración inicial de los iones se determinó por medio de simulaciones de Monte Carlo. Las moléculas de agua se generan y las pseudo-esferas son reemplazadas por las moléculas de lípidos. (Lucas, Rubio y Fernández,2018).

Ensamble de los componentes: Todos los componentes se acoplaron en un sistema. Se aplicó un campo de fuerza CHARMM36 validado en estudios previos.

Equilibrio del sistema: CHARMM-GUI generó archivos de entrada para el equilibrio del sistema, la minimización de energía y la producción. La minimización de energía se realizó a 5000 pasos.

El equilibrio del sistema se realizó en dos fases NVT y NPT. La primera fase es más corta que la segunda debido a la heterogeneidad del sistema, ya que está compuesto por moléculas de lípidos y agua que actúan como solventes. Las moléculas de agua deben orientarse alrededor de las cabezas hidrofílicas mediante la estabilización de la temperatura T.

- **Fase 1.** El sistema fue sometido dos veces a una temperatura de 315K con un ensamble NVT, un termostato V-rescale. El tiempo de simulación de cada equilibrio NVT fue de 25000 pasos (corresponde a 100ps = 0,1ns).
- **Fase 2.** Se procedió a aplicar el ensamble NPT para optimizar el volumen del sistema y equilibrar la presión. El sistema fue sometido cuatro veces a una temperatura de 315K y 1 atm. Se utilizó un termostato V-rescale y barostato Parrinello-Rahman. El tiempo de simulación para cada equilibrio NPT fue: primero de 25000 pasos, los tres restantes de 50000 pasos.

Para la producción final se ejecutaron 500000 pasos correspondientes a 1ns de simulación del sistema. Se realizaron 9 extensiones de tiempo del sistema teniendo como resultado una simulación de 10ns.

Cálculo del área molecular, presión superficial y elasticidad de Gibbs

Para evaluar el comportamiento no ideal de las capas lipídicas con diferentes concentraciones de colesterol se calculó tres parámetros que definen tal comportamiento: área molecular, tensión superficial y elasticidad de Gibbs.

Área molecular: Para el cálculo de área molecular se empleó Membplugin de VMD. Se siguió los pasos según el Manual Membplugin. Además, se requirió el archivo de estructura. gro y el archivo de trayectoria. xtc de 10ns para el cálculo de cada una de las simulaciones. Se utilizó una selección personalizable de un átomo clave o triada de átomos de cada tipo de fosfolípidos que se encuentran en las bicapas.

Las coordenadas X e Y del conjunto seleccionado de puntos se proyectaron en un plano delimitado por el cuadro de simulación. Este plano se dividió posteriormente en polígonos a través de un diagrama de Voronoi utilizando el programa qvoronoi, del paquete Qhull (Barber et al., 1996). De ese modo, se calcula el área de cada polígono.

Se requiere que las trayectorias estén envueltas según las condiciones de contorno periódicas. Se rodearon en tiempo de ejecución las trayectorias usando el comando “Wrap” o el parámetro de línea de comando “-wrapcmd” en la consola TK de VMD.

Se seleccionó las capas a analizar. Al tratarse de bicapas lipídicas se selecciona 0 y 1, que corresponden a la capa superior e inferior respectivamente. Además, se definió el número de fotograma inicial y final de la simulación.

Tensión Superficial: Mediante gmx energy de Gromacs se calculó la tensión superficial promedio de cada una de las bicapas lipídicas en cada nanosegundo de la simulación (10 ns).

La tensión superficial en Gromacs también está definido como la suma total de todas las superficies de la simulación como se muestra en la ecuación.

$$\gamma_s = \gamma_m + \gamma_{wv}$$

Donde γ_m es la tensión superficial de la mono-capa γ_{wv} es la tensión superficial de la inter-fase agua/vacío. Gromacs recomienda que el cálculo total de la tensión superficial de una bicapa lipídica sea dividido para dos, ya que el valor calculado considera que se trata de una mono-capa lipídica.

El cálculo de la presión superficial π se realizó mediante la ecuación. La tensión superficial de la inter-fase agua/aire se tomó el valor experimental de 70mN/m debido a que la presión superficial solo representa una conversión no un cálculo (Rose et al., 2008).

Elasticidad de Gibbs: La elasticidad de Gibbs se calculó con la siguiente ecuación

$$= -A \frac{d\gamma}{dA} \approx -A \frac{\Delta\gamma}{\Delta A}$$

Donde A es el área de la superficie (en este caso la superficie es la bicapa lipídica) y γ es la tensión superficial.

Resultados

Construcción y Dinámica Molecular de modelos moleculares

Al establecer las medidas del sistema, Membrane Builder reveló la información inicial del sistema:

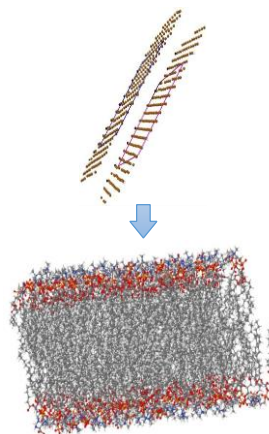
Tabla 2: Tamaño de los sistemas determinados

		80%DPPC- 20%DPPS	68%DPPC- 17%DPPS- 15%CHLI	56%DPPC- 14%DPPS- 30%CHLI	40%DPPC- 10%DPPS- 50%CHLI	24%DPPC- 06%DPPS- 70%CHLI
Tipo de caja		Rectangular	Rectangular	Rectangular	Rectangular	Rectangular
Tipo de cristal		Tetragonal	Tetragonal	Tetragonal	Tetragonal	Tetragonal
Longitud Å	<i>X</i>	79,0948797	76,9259384	74,6940426	71,6100552	68,3871333
	<i>Y</i>	79,0948797	76,9259384	74,6940426	71,6100552	68,3871333
	<i>Z</i>	57,9291238	73,16	74,66	75,68	77,12
Angulo del cristal	<i>Alpha</i>	90	90	90	90	90
	<i>Beta</i>	90	90	90	90	90
	<i>Gamma</i>	90	90	90	90	90
# de lipidos	<i>Superior</i>	100	100	100	100	100
	<i>Inferior</i>	100	100	100	100	100
# de agua		5000	5000	5000	5000	5000
# de iones Na		40	34	28	20	12
Centro Z		0	0	0	0	0

Fuente: Vanegas, 2018

Las pseudoesferas generadas fueron reemplazadas con las moléculas de lípidos.

Gráfico 1: Reemplazo de pseudoesferas por las cabezas hidrofílicas de los lípidos



Realizado por: Katherine Venegas, 2018.

Se generaron los componentes de agua e iones de Na para neutralizar el sistema debido a la carga negativa del DPPS. Además, se generaron 11 archivos para Gromacs que contienen la estructura,

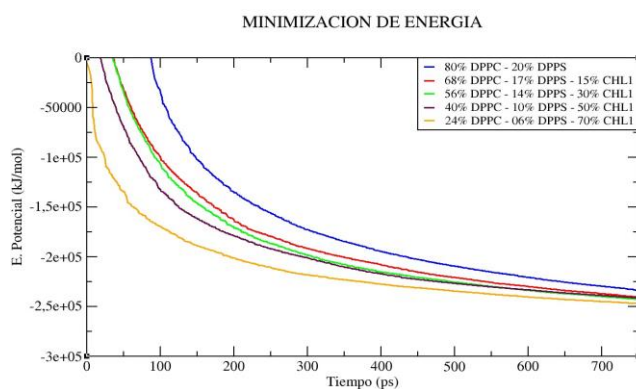
la información y los parámetros adecuados para continuar con la Dinámica Molecular de los modelos moleculares:

- index.ndx: índice
- topol.top: topología
- step5_charmm2gmx.pdb: archivo de estructura
- step6.0_minimization.mdp: minimización de energía
- step6. [1-2] _equilibration. mdp: equilibrio NVT
- step6. [3-6] _equilibration. mdp: equilibrio NPT
- step7_production.mdp: producción

Minimización de energía: Los resultados obtenidos en la minimización de energía revelan una disminución de la energía potencial como muestra el Gráfico 1-4. Las estructuras de los modelos moleculares se relajaron y obtuvieron una geometría estable para la simulación. Los valores promedios de la E_{pot} son:

-168448 \pm 53000kJ/mol (80% DPPC – 20% DPPS), -205153 \pm 31000kJ/mol (68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1), -208513 \pm 31000kJ/mol (56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1), -204282 \pm 26000kJ/mol (40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1) y -209781 \pm 19000kJ/mol (24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1).

Gráfico 2: Disminución de la energía potencial de los 5 modelos moleculares

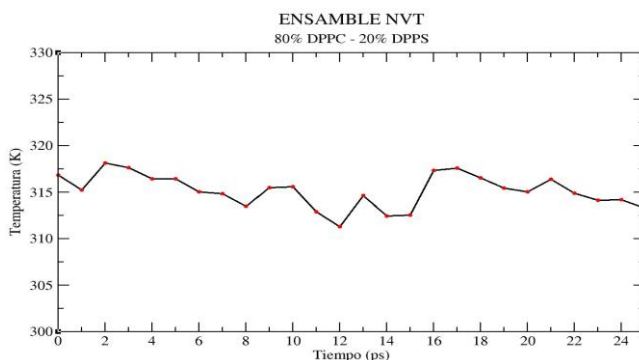


Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Equilibrio del sistema: Después de la minimización de energía, los sistemas fueron sometidos a ensambles NVT y NPT para equilibrar el sistema. Al someter los sistemas al ensamble NVT

controlado por un termostato V-rescale se presenta un incremento en la temperatura T hasta alcanzar el equilibrio y mantenerse constante. Los valores promedios de la T son: $315,149 \pm 0,511\text{K}$ (80% DPPC – 20% DPPS), $314,244 \pm 0,330\text{K}$ (68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1), $314,978 \pm 0,422\text{K}$ (56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1), $315,461 \pm 0,210\text{K}$ (40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1) y $315,200 \pm 0,460\text{K}$ (24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1).

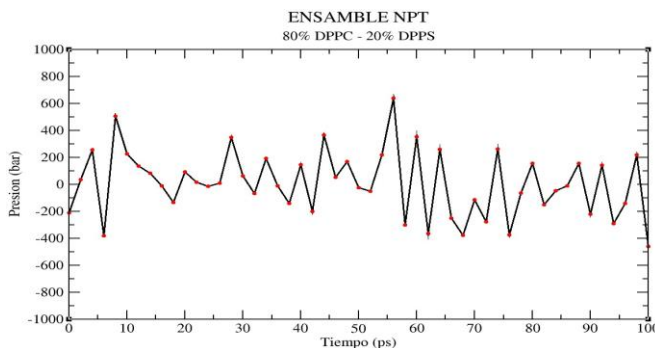
Gráfico 3: Temperatura del sistema 80% DPPC – 20% DPPS



Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Posteriormente se sometió a los sistemas al ensamble NPT controlado por un barostato ParrinelloRahman para mantener una presión constante P y una optimización del volumen. Los valores promedios obtenidos de la P son: $-7,929 \pm 9,901\text{bar}$ (80% DPPC – 20% DPPS), $6,997 \pm 5,600\text{bar}$ (68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1), $4,509 \pm 9,501\text{bar}$ (56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1), $-5,637 \pm 6,300\text{bar}$ (40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1) y $28,363 \pm 16,001\text{bar}$ (24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1).

Gráfico 4: Presión del sistema 80% DPPC – 20% DPPS

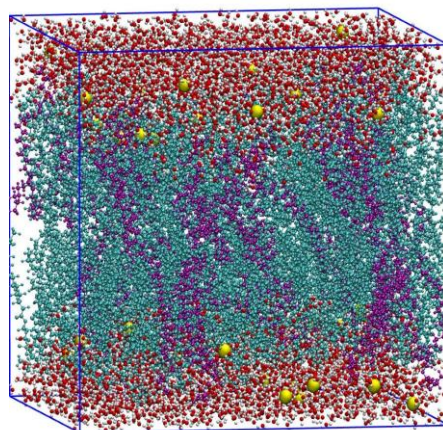


Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Producción: Se realizó una producción de 1ns (500 000ps) con 9 extensiones de tiempo de 1 ns reuniendo como tal 10 ns de simulación. En cada extensión se creó un archivo de punto de control (.cpt). Estos archivos guardaron el estado de la simulación, incluyendo las variables extendidas de termostato/barostato, trayectorias, entre otras.

En el siguiente gráfico se muestran las estructuras obtenidas al final de la simulación, las moléculas de agua se encuentran en la parte superior e inferior de la bicapa lipídica, los iones de Na están representados por el color amarillo, las moléculas de DPPC de celeste, las moléculas de DPPS de morado, las moléculas de CHL1 de marrón.

Gráfico 5: Representación molecular del sistema 80% DPPC – 20% DPPS después de 10 ns de simulación



Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Cálculo de área molecular, tensión superficial y elasticidad de Gibbs

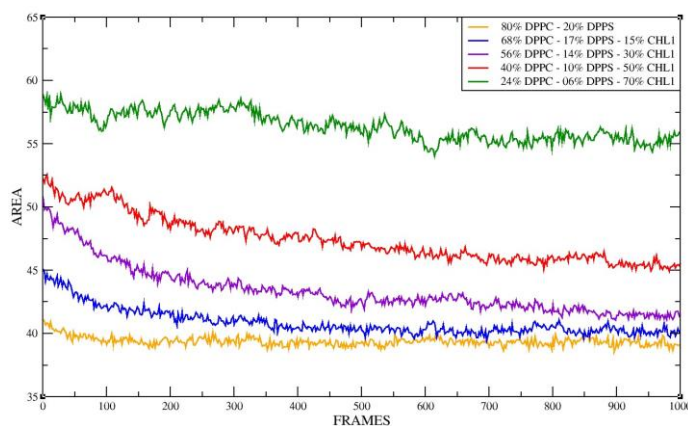
Área molecular: Los resultados obtenidos de área molecular mediante Membplugin se muestran en la Tabla 3. Se observó que a medida que aumenta la concentración de colesterol el área molecular total disminuye, esto se debe a la ubicación del colesterol junto fosfolípidos. Los anillos de esteroides del colesterol interactúan con las colas de los lípidos provocando una condensación de la bicapa.

Tabla 3: Valores promedio del área molecular de cada una de las simulaciones

	DPPC (\AA^2)	DPPS (\AA^2)	CHL1 (\AA^2)	Total (\AA^2)
80% DPPC – 20% DPPS	57,477 ± 1,077	52,005 ± 2,090	-	56,383 ± 1,096
68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1	51,911 ± 0,947	47,511 ± 1,801	27,070 ± 1,644	47,438 ± 1,804
56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1	51,074 ± 0,994	46,241 ± 1,803	27,749 ± 1,130	43,400 ± 1,904
40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1	52,292 ± 1,439	49,220 ± 2,356	30,071 ± 1,097	40,874 ± 1,038
24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1	54,961 ± 1,538	53,308 ± 3,740	32,861 ± 0,725	39,392 ± 0,353

Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Gráfico 6: Área molecular de las 5 simulaciones de bicapas lipídicas a los 10ns



Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Tensión Superficial: Las tensiones superficiales obtenidas para las 5 simulaciones se muestran en la Tabla 4. El comportamiento ideal al aumentar la concentración de colesterol es que la tensión superficial aumente significativamente. No obstante, sucede un comportamiento no ideal, ya que los resultados muestran una fluctuación de la tensión superficial a medida que aumenta la concentración de colesterol.

Tabla 4: Valores de tensión superficial promedio γ_s de cada una de las simulaciones

Bicapas lipídicas	γ_s (bar · nm)	γ_s (mN / m)
80% DPPC – 20% DPPS	-55,916 ± 43,589	-5,591 ± 4,359
68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1	-27,258 ± 48,004	-2,726 ± 4,800
56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1	75,646 ± 51,337	7,565 ± 5,134
40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1	-23,764 ± 54,421	-2,376 ± 5,442
24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1	24,859 ± 55,896	2,486 ± 5,589

Realizado por: Katherine Venegas, 2018.

Asimismo, El cálculo de la presión superficial con los resultados obtenidos de la tensión superficial se obtuvo los valores de la Tabla 5.

Tabla 5: Valores de la isoterma presión superficial π – y el área por lípido A_L .

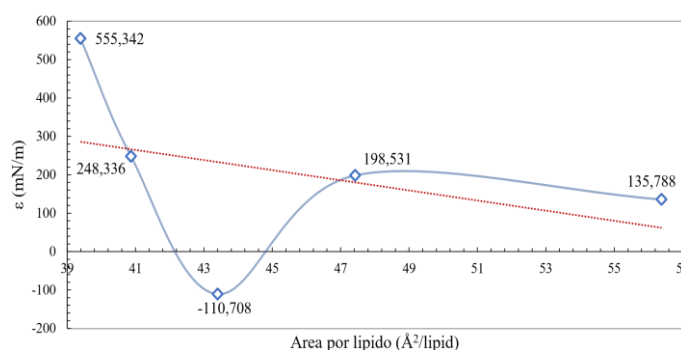
Bicapas lipídicas	Área por lípido (Å ² /lipid)	Presión superficial π (mN / m)
80% DPPC – 20% DPPS	56,383 ± 1,096	70,215 ± 2,810
68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1	47,438 ± 1,804	70,946 ± 3,760
56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1	43,400 ± 1,904	69,897 ± 3,660
40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1	40,874 ± 1,038	70,856 ± 4,200
24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1	39,392 ± 0,353	69,958 ± 4,670

Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Con los valores promedios obtenidos del área molecular y la presión superficial mostrados en la Tabla 5 se hizo una isoterma $\pi - A_L$ que nos describe el comportamiento de la presión superficial en función del área por lípido. Se observó cambios mínimos a los 10ns de las simulaciones.

Elasticidad de Gibbs: Los resultados obtenidos de la elasticidad de Gibbs son los que se muestran en el Gráfico 7.

Gráfico 7: Elasticidad de Gibbs ϵ con respecto al área por lípido



Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Los valores promedios de elasticidad de Gibbs mostrados en la Tabla 6 con los resultados obtenidos de los promedios del área total de las bicapas lipídicas y de las tensiones superficiales en cada nanosegundo de las simulaciones.

Tabla 6: Valores de la elasticidad de Gibbs promedio ϵ y el área por lípido

Bicapas lipídicas	Área por lípido (Å²/lípido)	ϵ (mN / m)
80% DPPC – 20% DPPS	56,383 ± 1,096	135,788 ± 0,697
68% DPPC – 17% DPPS – 15% CHL1	47,438 ± 1,804	198,531 ± 1,887
56% DPPC – 14% DPPS – 30% CHL1	43,400 ± 1,904	-110,708 ± 0,357
40% DPPC – 10% DPPS – 50% CHL1	40,874 ± 1,038	248,336 ± 0,160
24% DPPC – 06% DPPS – 70% CHL1	39,392 ± 0,353	555,342 ± 0,342

Realizado por: Katherine Venegas, 2018

Las bicapas lipídicas son flexibles cuando $\epsilon < 50\text{mN/m}$ y rígidas cuando $\epsilon > 50\text{mN/m}$. La bicapa lipídica simulada que mostró mayor rigidez es la que contiene 70% de colesterol; y se presentó una capa lipídica con mayor flexibilidad cuando contiene 30% de colesterol.

Conclusiones

Las simulaciones en MD de los cinco modelos moleculares construidos brindaron información relevante a una escala atómica de los efectos que tienen el colesterol sobre los fosfolípidos en

las bicapas lipídicas. Cada modelo se construyó con diferentes concentraciones de colesterol dando como resultado simulaciones de 10 ns en equilibrio térmico respetando el comportamiento de las bicapas lipídicas, por tal motivo se pueden validar los resultados obtenidos en un contexto bio-físico y termodinámico.

El efecto de condensación de los fosfolípidos con respecto a la presencia del colesterol se evaluó mediante los valores de área molecular de las 5 simulaciones computacionales. El área molecular disminuyó a medida que la concentración de colesterol aumenta.

Las cinco bicapas lipídicas no experimentaron cambios en la tensión superficial durante el tiempo de cada simulación. No obstante, se observó fluctuaciones en la tensión superficial a medida que la concentración de colesterol aumenta demostrando el comportamiento no ideal del colesterol frente a los fosfolípidos de membrana.

Los valores obtenidos de la elasticidad de Gibbs evidenciaron que existe mayor rigidez en la bicapa con 70% de colesterol en su composición. En membranas biológicas esta rigidez implicaría el impedimento del transporte de sustancias fuera y dentro de la célula por ende afectaría al funcionamiento total del sistema. La bicapa con mayor flexibilidad fue la bicapa lipídica con 30% de colesterol.

Al comparar la presión superficial de los resultados obtenidos con los experimentales se corroboró el comportamiento que tienen las capas lipídicas con mayor concentración de colesterol. En cuanto a los valores se hallaron discrepancias debido a que las inter-fases de las capas simuladas y las capas hechas experimentalmente son diferentes. Las primeras son de tipo agua/lípido y agua/aire, mientras que las segundas son inter-fases agua/aire.

Se comparó la elasticidad de Gibbs, coincidiendo en el comportamiento de ambos casos. Se evidenció que las variaciones en los resultados no solo dependen del área de superficie de la bicapa y de la tensión superficial, sino también de la concentración de iones en los sistemas. Las inter-fases de ambos casos también influyeron en estas diferencias.

Referencias

1. Barber, C. B., Dobkin, D. P., & Huhdanpaa, H. (1996). The quickhull algorithm for convex hulls. *ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS)*, 22(4), 469-483.
2. BAEZ CASTILLO, L. E. O. N. A. R. D. O. (2013). Simulación por dinámica molecular de membranas de fosfolípidos usando GROMACS.
3. Cai, W., Li, J., & Yip, S. (2012). 1.09 Molecular Dynamics. *Compr. Nucl. Mater.*, edited by JMK Rudy (Elsevier, Oxford, 2012), 249-265.
4. Gracia, S., Astón, M., García Risueño, P., & Alastruey Benedé, J. Implementación e integración en GROMACS de un algoritmo eficiente y preciso para imponer ligaduras en simulaciones de dinámica molecular.
5. Lucas-Gil, E. D., Rubio Marcos, F., & Fernández Lozano, J. F. (2018). Materiales jerarquizados de ZnO para potenciar la respuesta antimicrobiana.
6. Leathes, J. B. (1925). Croonian Lectures ON THE RÔLE OF FATS IN VITAL PHENOMENA. *The Lancet*, 205(5303), 803-807.
7. McConnell, H. M., & Radhakrishnan, A. (2003). Condensed complexes of cholesterol and phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1610(2), 159-173.
8. Rose, D., Rendell, J., Lee, D., Nag, K., & Booth, V. (2008). Molecular dynamics simulations of lung surfactant lipid monolayers. *Biophysical chemistry*, 138(3), 67-77.
9. Venegas Guamán, K. E. (2018). Evaluación del comportamiento no ideal de una bicapa lipídica de DPPC y DPPS con diferentes concentraciones de colesterol usando dinámica molecular (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

References

1. Barber, C. B., Dobkin, D. P., & Huhdanpaa, H. (1996). The quickhull algorithm for convex hulls. *ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS)*, 22 (4), 469-483.
2. BAEZ CASTILLO, L. E. O. N. A. R. D. O. (2013). Molecular dynamics simulation of phospholipid membranes using GROMACS.
3. Cai, W., Li, J., & Yip, S. (2012). 1.09 Molecular Dynamics. *Compr. Nucl. Mater.*, Edited by JMK Rudy (Elsevier, Oxford, 2012), 249-265.

4. Gracia, S., Astón, M., García Risueño, P., & Alastruey Benedé, J. Implementation and integration in GROMACS of an efficient and precise algorithm to impose ligatures in molecular dynamics simulations.
5. Lucas-Gil, E. D., Rubio Marcos, F., & Fernández Lozano, J. F. (2018). ZnO hierarchical materials to enhance the antimicrobial response.
6. Leathes, J. B. (1925). Croonian Lectures ON THE RÔLE OF FATS IN VITAL PHENOMENA. *The Lancet*, 205 (5303), 803-807.
7. McConnell, H. M., & Radhakrishnan, A. (2003). Condensed complexes of cholesterol and phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Biomembranes*, 1610 (2), 159-173.
8. Rose, D., Rendell, J., Lee, D., Nag, K., & Booth, V. (2008). Molecular dynamics simulations of lung surfactant lipid monolayers. *Biophysical chemistry*, 138 (3), 67-77.
9. Venegas Guamán, K. E. (2018). Evaluation of the non-ideal behavior of a lipid bilayer of DPPC and DPPS with different cholesterol concentrations using molecular dynamics (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

Referências

1. Barber, C.B., Dobkin, D.P. e Huhdanpaa, H. (1996). O algoritmo quickhull para cascos convexos. *Transações ACM em software matemático (TOMS)*, 22 (4), 469-483.
2. BAEZ CASTILLO, L. E. O. N. A. R. D. O. (2013). Simulação de dinâmica molecular de membranas fosfolipídicas utilizando GROMACS.
3. Cai, W., Li, J., & Yip, S. (2012). 1.09 Dinâmica Molecular. *Compr. Nucl. Mater.*, Editado por JMK Rudy (Elsevier, Oxford, 2012), 249-265.
4. Gracia, S., Astón, M., García Risueño, P. e Alastruey Benedé, J. Implementação e integração no GROMACS de um algoritmo eficiente e preciso para impor ligaduras em simulações de dinâmica molecular.
5. Lucas-Gil, E. D., Rubio Marcos, F., & Fernández Lozano, J. F. (2018). Materiais hierárquicos de ZnO para melhorar a resposta antimicrobiana.
6. Leathes, J.B. (1925). Palestras Croatas NO PAPEL DA GORDURA EM FENÔMENOS Vitais. *The Lancet*, 205 (5303), 803-807.

7. McConnell, H.M. & Radhakrishnan, A. (2003). Complexos condensados de colesterol e fosfolípidios. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Biomembranes*, 1610 (2), 159-173.
8. Rose, D., Rendell, J., Lee, D., Nag, K. e Booth, V. (2008). Simulações de dinâmica molecular de monocamadas lipídicas de surfactantes pulmonares. *Biophysical chemistry*, 138 (3), 67-77.
9. Venegas Guamán, K.E. (2018). Avaliação do comportamento não ideal de uma bicamada lipídica de DPPC e DPPS com diferentes concentrações de colesterol por dinâmica molecular (tese de bacharel, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

©2020 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).