
Metabolismo de quilomicrones y VLDL

M. A. Lasunción, D. Gómez-Coronado y E. Herrera

La función prominente de los quilomicrones y de las lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL es transportar triglicéridos (triacilglicerolos) de unos tejidos a otros a través de la linfa y el plasma. De una manera cuantitativamente menos importante pero igualmente relevante, estas lipoproteínas transportan otros lípidos y vitaminas de carácter liposoluble (ésteres de retinol y tocoferol).

Los quilomicrones y VLDL constituyen el grupo de lipoproteínas ricas en triglicéridos; no obstante, también debe hacerse referencia aquí a los quilomicrones remanentes y las lipoproteínas de densidad intermedia o IDL dado que son las partículas resultantes del metabolismo de aquéllas en el plasma.

HETEROGENEIDAD DE LAS LIPOPROTEÍNAS RICAS EN TRIGLICÉRIDOS

Los quilomicrones son un conjunto de lipoproteínas de origen intestinal de gran tamaño (de 80 a 5000 nm de diámetro) y varios millones de dalton, con densidad hidratada inferior a 0,95 g/ml y coeficiente de flotación (Sf) superior a 400. Las VLDL, por su parte, son de origen hepático, tienen un diámetro (30-80 nm) y un Sf (20-400) inferiores a los quilomicrones y una densidad comprendida entre 0,95 y 1,006 g/ml.

Dado que son criterios operacionales los que se utilizan para distinguirlos, cada clase de lipoproteínas comprende partículas de características físico-químicas muy diversas y la línea divisoria entre unas y otras no deja de ser más que un punto de inflexión en una curva de distribución. Por ejemplo, el tránsito entre VLDL e IDL es tan suave y sutil que probablemente el límite de densidad que las separa (1,006 g/ml) es más operativo que reflejo de una característica que diferencie lipoproteínas con distinto metabolismo.

La diferenciación entre quilomicrones y quilomicrones remanentes es, por su parte, poco concreta al ser las segundas el resultado de la metabolización gradual de las primeras. Efectivamente, durante la degradación en el plasma de los quilomicrones se producen cambios en la composición lipídica y apoproteica al tiempo que las partículas van disminuyendo de tamaño progresivamente. Aun siendo así, existe solapamiento de tamaños y densidades entre los quilomicrones intactos y los quilomicrones parcialmente hidrolizados al ser enorme la diversidad de tamaños de los quilomicrones recién sintetizados. En conjunto, los remanentes contienen menos triglicéridos y más colesterol, ésteres de colesterol, mono y diglicéridos y más apolipoproteína (apo) E que los quilomicrones. Durante el curso de la formación de los remanentes por acción de la lipoproteína lipasa, las lipoproteínas incorporan otros componentes a su superficie e incluso la propia enzima. La hidrólisis de los triacilgliceroles conduce a la aparición de ácidos grasos libres que, dada su naturaleza anfifílica, se sitúan preferentemente en la superficie de la lipoproteína. Todo ello determina un aumento de la carga negativa de la partícula, propiedad que se aprovecha metodológicamente para la separación de los remanentes de los quilomicrones. Aparte de estas diferencias composicionales frecuentemente se utiliza para distinguir unas de otras lipoproteínas una característica funcional, como es que los quilomicrones intactos no son reconocidos y eliminados por el hígado, mientras que sí lo son los quilomicrones remanentes.

La diferenciación entre quilomicrones o sus remanentes y las VLDL es más clara cuando se atiende a su composición en apoproteínas o en ésteres de retinol, por ejemplo. En humanos, los quilomicrones contienen apo B 48 mientras que las VLDL poseen apo B 100; por otra parte, las VLDL carecen de apos A mientras que los quilomicrones presentan una cantidad apreciable de apo A I, A II y A IV. Los quilomicrones y sus remanentes transportan eficazmente los ésteres de retinol por la linfa y posteriormente por el plasma siendo estas lipoproteínas el vehículo fisiológico de esta vitamina en su trayecto de la mucosa intestinal al hígado; por el contrario, y como es sabido, el retinol que deja el hígado no lo hace asociado a lipoproteínas sino que circula unido a la proteína enlazante de retinol (RBP) y a la transtiretina. De manera que la identificación de apo B 48 o de ésteres de retinol en una preparación de lipoproteínas de densidad inferior a 1,006 g/ml es indicativa de la presencia de quilomicrones o sus remanentes, pero, desafortunadamente, ninguna de estas propiedades puede ser aprovechada para la separación y purificación de quilomicrones respecto de VLDL. A esta dificultad hay que sumarle el hecho de que todas las clases de lipoproteínas definidas por los métodos clásicos de separación (ultracentrifugación, electroforesis, cromatografía de exclusión molecular) rinden poblaciones polidispersas e inhomogéneas de partículas, pudiéndose distinguir dentro de ellas subpoblaciones con diferente composición en lípidos y apoproteínas. Estas subpoblaciones pueden ser distintas en algunos aspectos de su metabolismo, como se va a desarrollar a continuación.

Las VLDL se han subfraccionado mediante diversas técnicas como la ultracentrifugación diferencial, zonal o en gradiente de densidad, electrofore-

sis preparativa, filtración en gel y cromatografía de afinidad. Como característica general, se observa que conforme disminuye el tamaño y aumenta la densidad de estas lipoproteínas, disminuye su contenido absoluto de triglicéridos y de apoproteínas C y E. Mediante ultracentrifugación se ha demostrado que las VLDL se distribuyen enteramente a lo largo del espectro de Sf de 20 a 400, habiendo una superposición de subfracciones discretas de partículas con distintas propiedades. En general, un menor coeficiente de flotación se corresponde con un menor contenido de triglicéridos y un enriquecimiento relativo en el resto de componentes, entre los que destacan los ésteres de colesterol. Conforme se reduce el tamaño de la lipoproteína disminuye el número de moléculas de cada uno de los componentes lipídicos y apoproteicos de las VLDL, a excepción hecha de la apo B 100, de la cual hay una molécula por partícula. Por filtración en gel de agarosa se pueden recoger fracciones sucesivas con tamaño decreciente. Al igual que se observaba mediante ultracentrifugación, en la separación por filtración en gel paralelamente a la disminución del tamaño de la lipoproteína disminuye su contenido relativo de triglicéridos y aumenta el de proteína, fosfolípidos, colesterol esterificado y libre.

La cromatografía de afinidad, incluida la de inmutofinidad, constituye un medio de subfraccionamiento basado en un criterio más funcional que la densidad o el tamaño, puesto que los ligandos que se emplean están dirigidos a reconocer el componente apoproteico de las VLDL. Éste es el caso, por ejemplo, de la cromatografía en gel de heparina-agarosa. La heparina interacciona con la apo E por la riqueza de esta última en restos de arginina y lisina. Mediante esta técnica se pueden separar de dos a cuatro subfracciones de VLDL con contenido creciente de apo E eluyendo la columna con un gradiente de fuerza iónica. Generalmente la riqueza de apo E se asocia con un menor contenido en triglicéridos y mayor en colesterol esterificado y libre, fosfolípidos y proteínas, al tiempo que con un menor tamaño de partícula. La distribución de isoformas de la apo E y la apo C no presenta diferencias entre las VLDL con distinta afinidad por la heparina, como tampoco varía la relación apo C II/apo C III. Cierta proporción de las VLDL plasmáticas es totalmente deficiente en apo E y esta subfracción se caracteriza, junto con su riqueza en triglicéridos y pobreza en colesterol, por un aumento de su contenido en fosfatidilcolina y una disminución en esfingomielina, con respecto a las otras subfracciones. Sobre la base de su composición podría sugerirse que las partículas más afines a la heparina proceden metabólicamente de las VLDL menos afines, pobres en apo E. Lo interesante de este tipo de subfraccionamiento es que rinde poblaciones de lipoproteínas con metabolismo diferenciado en algunos aspectos. Así, las VLDL ricas en apo E compiten con gran eficiencia con las LDL por la unión al receptor B 100: E mientras que lo hacen escasamente las VLDL con baja afinidad por la heparina. En nuestro laboratorio hemos estudiado el comportamiento de estas subpoblaciones de VLDL frente a las enzimas lipolíticas, lipoproteína lipasa y lipasa hepática endotelial, habiendo observado que la hidrólisis de los triglicéridos de las VLDL ricas en apo E es menos eficaz que en el caso de las otras subfracciones. Este fenómeno parece deberse precisamente al alto contenido de apo E más que a las

otras diferencias en composición ya que la adición de esta apolipoproteína a una emulsión artificial de triglicéridos también produce una inhibición de su hidrólisis por la lipoproteína lipasa.

Esta heterogeneidad llega a un grado superior de exquisitez cuando consideramos que no sólo existen VLDL con diferente contenido absoluto o relativo de apolipoproteínas sino que se detectan lipoproteínas con semejante dotación apoproteica pero en donde alguna de ellas muestra diferente reactividad. Esto se ha puesto de manifiesto, por ejemplo, mediante cromatografía de inmunoafinidad con anticuerpos monoclonales o mediante el estudio de la acción de enzimas proteolíticas. Así se han reconocido dos subpoblaciones de VLDL con apo E, en una de las cuales la apo E no es susceptible de ser hidrolizada por la trombina y tampoco interacciona con los receptores B 100: E. Este tipo de resultados apoya el concepto de que las apolipoproteínas pueden adoptar en la lipoproteína dos configuraciones o disposiciones distintas, oculta y expuesta, respectivamente, con evidentes consecuencias en el metabolismo de las lipoproteínas portadoras.

Esta heterogeneidad también se observa en el rango de las IDL. Mediante ultracentrifugación en gradiente de densidad discontinuo se han separado las IDL_1 ($d = 1,008-1,022$ g/ml) y las IDL_2 , algo más densas ($d = 1,013-1,028$ g/ml). Las primeras contienen un 21 % de triglicéridos y un 41 % de ésteres de colesterol, mientras que en las IDL_2 esos porcentajes son 11 y 51, respectivamente. Como se observa, las IDL_1 se superponen con las VLDL más pequeñas y las IDL_2 , con las LDL más grandes. Aun teniendo una composición en apoproteínas semejante son funcionalmente distintas, habiéndose reconocido que las IDL_1 se convierten en LDL por acción de lipoproteína lipasa, proceso que no sufren las IDL_2 , paradójicamente. Estas IDL_2 son las mayoritarias en sujetos normales y su concentración se asocia positiva y fuertemente con la presencia de enfermedad coronaria.

Dada la enorme variedad de tipos de partículas que componen tanto los quilomicrones como las VLDL e IDL, y no siendo lo habitual la utilización de preparaciones de lipoproteínas homogéneas por ser tarea difícil su obtención, se debe tener conciencia de que ciertas de las conclusiones o generalidades que se extraen de los experimentos realizados con mezclas de partículas pueden no ser aplicables a todas y cada una de las subpoblaciones de lipoproteínas presentes.

LIPOPROTEÍNA LIPASA

La actividad de lipoproteína lipasa (LPL) fue denominada inicialmente «factor aclarador del plasma» como responsable del aclaramiento de la turbidez de un plasma lipémico. Ya en los primeros estudios se observó que ese aclaramiento en un plasma *ex vivo* se aceleraba si previamente se administraba heparina i.v. al paciente. La lipoproteína lipasa es una triacilglicerol esterhidrolasa, principal responsable de la hidrólisis de los triglicéridos de quilomicrones y VLDL en el plasma. Funcionalmente se encuentra enclavada

en la cara luminal de la pared vascular, en donde interacciona con las lipoproteínas circulantes para permitir la captación por los tejidos subyacentes de los ácidos grasos resultantes. Esta enzima se encuentra ampliamente distribuida entre los diferentes tejidos, como corresponde con su relevante función, a excepción del hígado en donde sólo se detecta en determinadas etapas del desarrollo. La enzima es sintetizada por las células del parénquima tisular en forma de proenzima, se activa por glicosilación y se exporta a la membrana y de ahí a la pared vascular por un mecanismo no esclarecido (fig. 3.1). Se trata de una glicoproteína con un peso molecular en torno a los 58.000 daltons, que se enlaza a la membrana celular mediante restos de heparán sulfato, lo que explica que la heparina facilite el desprendimiento de la enzima de su enclave fisiológico, al competir con aquel glicosaminoglicano. Su forma acti-

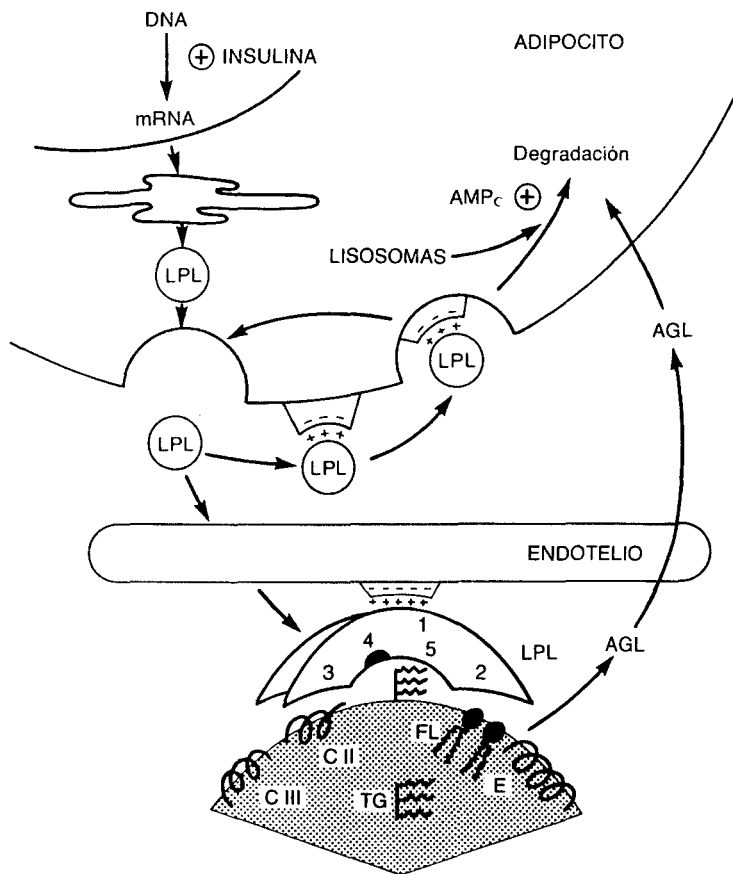


Fig. 3.1. Lipoproteína lipasa en el tejido adiposo. Esquema sobre su síntesis, reciclaje y degradación mediada por receptor, translocación al endotelio y función. Los números en el interior del dímero de LPL indican los diferentes sitios activos: 1. sitio de unión a glicosaminoglicanos; 2. sitio de unión a la interfase lípido-agua; 3. sitio de unión a apo C II; 4. sitio catalítico; 5. sitio de unión a ácidos grasos; TG, triglicéridos; AGL, ácidos grasos libres; FL, fosfolípidos; C II, C III y E, apolipoproteínas.

va es un homodímero que, no obstante, está en equilibrio reversible con la forma monomérica, la cual es fácilmente inactivable. Varios dímeros de LPL actúan simultáneamente sobre cada VLDL o quilomicrón, hidrolizando preferentemente los enlaces sn-1 de los acilglicérols y la enzima llega a desprenderse de la pared endotelial para viajar asociada a la lipoproteína y ser degradada finalmente en el hígado.

La molécula de LPL dispone de cinco sitios funcionales: 1) sitio catalítico, que contiene algún resto serina reactivo (es una serina hidrolasa); 2) sitio de unión a la apo C II; 3) sitio de unión a heparán sulfato, que ancla la enzima al endotelio; 4) sitio de unión a los ácidos grasos, que permite el reconocimiento del sustrato; y 5) sitio de unión a la interfase lípido-agua, que permite la unión a la lipoproteína (fig. 3.1).

Para su actividad la LPL requiere la interacción con un cofactor proteico, la apo C II. No se conoce con exactitud cómo realiza su efecto este activador y existe discrepancia entre si disminuye la K_m de la reacción sin afectar la $V_{máx}$ o lo contrario, pero el hecho es que su carencia por alteración genética determina que la LPL no exprese su actividad y el paciente muestre una intensa hipertrigliceridemia, equivalente a la que se observa en los deficientes de LPL. Por otro lado, en condiciones fisiológicas normales, la cantidad de apo C II que se encuentra en las VLDL y quilomicrones es diez veces superior a la necesaria para la máxima actividad de la enzima, lo que asegura que la acción de la LPL sea eficaz. No obstante, otras apolipoproteínas pueden afectar la cinética de hidrólisis de los triglicéridos, por lo que la velocidad de hidrólisis de estas lipoproteínas será el resultado del balance entre apolipoproteínas. Así la apo C III disminuye la activación producida por el apo C II, probablemente por desplazamiento del activador de su sitio de unión a la enzima, aunque nunca llega a anular su actividad a las concentraciones habituales de estas apolipoproteínas. La evidencia más clara del papel inhibitor fisiológico de la apo C III es precisamente el acelerado catabolismo de las VLDL que se observa *in vivo* en pacientes deficientes en esta apolipoproteína, y su reversión a la normalidad cuando se adiciona apo C III *in vitro*. Por lo que se refiere a la apo E, su posible papel como modulador de la acción de la LPL es más confuso por la disparidad de resultados que se han reportado. Estudios recientes en nuestro laboratorio y en otros, sin embargo, indican que esta apoproteína puede comportarse como un inhibidor de la acción de la LPL aunque no conocemos a través de qué mecanismo.

Aparte de este control de la actividad por las apolipoproteínas, la LPL está sujeta a un rápido proceso de síntesis y degradación que permite ajustar su actividad a las necesidades energéticas o de acúmulo de ácidos grasos del tejido (fig. 3.1). Dado que la actividad de LPL va a determinar la canalización de los triglicéridos circulantes hacia uno u otro tejido, se comprende que dicha actividad esté sujeta a variaciones según el estado nutricional y endocrino del organismo. Así, la actividad LPL del tejido adiposo es alta durante el estado absortivo, lo que permite que los triglicéridos de quilomicrones y VLDL sean hidrolizados en las inmediaciones de este tejido y que los ácidos grasos resultantes sean captados por los adipocitos. Durante el ayuno, por el contrario, la actividad LPL de este tejido disminuye mucho, de manera

que los triglicéridos de las lipoproteínas se dirigen a otros tejidos que mantienen su actividad de LPL, por ejemplo, el músculo. En otras situaciones fisiológicas, como por ejemplo durante la última fase de la gestación y la lactancia, se observan también grandes cambios en la actividad LPL de los tejidos, con notable repercusión en el metabolismo de los triglicéridos plasmáticos. Así, la expresión de una alta actividad en la glándula mamaria asegura el abastecimiento de ácidos grasos para la formación de la leche, mientras que la baja actividad de LPL del tejido adiposo en esa etapa facilita ese flujo de triglicéridos. Estos cambios de actividad se consiguen por el control tanto de la síntesis de la enzima como de su degradación intracelular en la propia célula en donde es sintetizada (fig. 3.1) e, interesantemente, este control es propio para cada tipo celular. A este respecto se conoce que la insulina activa la síntesis de mRNA de LPL en adipocitos, mientras que no la afecta en músculo cardíaco. Por otra parte, el AMPc inhibe intensamente la actividad de LPL en tejido adiposo, pero la aumenta en corazón habiéndose propuesto que este nucleótido, en el adipocito, activa la tasa de degradación de la enzima (fig. 3.1). Otros posibles puntos de regulación son la llamada maduración de la enzima por glicosilación y su liberación al espacio extracelular y, de hecho, se conoce que el adipocito dispone de una reserva intracelular de LPL cuantitativamente importante, bien inactiva o bien no detectable con los métodos de extracción habituales, que se libera tras la estimulación de la célula con heparina o insulina. Recientemente se ha propuesto la existencia de un receptor para LPL en la membrana celular que actuaría como enlace transitorio de la enzima; de ahí la LPL se trasladaría a la célula endotelial mediante algún mecanismo desconocido, o bien se internaría en la célula de origen para ser reciclada o degradada en los lisosomas (fig. 3.1).

Sin duda, este elaborado control de la actividad de esta enzima es indicativo de la importantísima función de la LPL en el metabolismo de las lipoproteínas. Efectivamente la LPL es responsable del aclaramiento «dirigido» de los triglicéridos de quilomicrones y VLDL, pero también interviene en el metabolismo de las HDL, como lo sugiere la correlación directa existente entre actividad LPL y concentración de HDL₂, por ejemplo. Esta relación se fundamenta en el desprendimiento de componentes superficiales de las lipoproteínas ricas en triglicéridos cuando son hidrolizadas por la LPL, las cuales tienen ya características de HDL, componentes que son recogidos por las HDL₃ para su transformación en HDL₂. Aparte de ello, la LPL es capaz de hidrolizar los triglicéridos de ciertas HDL (particularmente de las que se presentan en el período absortivo), lo cual, en conjunción con la acción de la proteína transferidora de lípidos neutros del plasma, conduce a la formación de HDL progresivamente más pobres en lípidos y más pequeñas. De ahí que una deficiencia de LPL repercuta no sólo en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos sino también en el de las otras. Por otra parte, no todas las hipertrigliceridemias de la patología humana se corresponden con una actividad de LPL disminuida, por lo que su causa debe estar relacionada con una mayor tasa de secreción hepática de lipoproteínas o con una hipotética alteración de la estructura o composición de las lipoproteínas que las haga interaccionar deficientemente con la LPL.

LIPASA HEPÁTICA ENDOTELIAL

La lipasa hepática endotelial (LHE) es también una acilglicerol esterhidrolasa que se localiza funcionalmente en las células endoteliales de los sinusoides hepáticos, enlazada mediante glicosaminoglicanos al igual que la LPL y, por lo tanto, liberable por la heparina. Se trata de una glicoproteína con una alta homología con la LPL, pero que se sintetiza exclusivamente en el hepatocito, de manera que la actividad de esta enzima que puede detectarse en glándulas adrenales o en ovarios procede de aquel órgano, probablemente siendo transportada por HDL. *In vitro* la LHE hidroliza enlaces éster de acilgliceroles y de fosfoacilgliceroles. Sobre estos últimos actúa como una fosfolipasa A1 y, aunque posee un único sitio catalítico, sus distintas acciones pueden ser disociadas entre sí mediante proteólisis limitada, lo que sugiere la existencia de uno o varios sitios de reconocimiento del sustrato distintos del catalítico. Posee un pH óptimo básico (pH 8-9) como la LPL, pero se distingue de esta última por no requerir apo C II y no ser inhibida por altas concentraciones salinas (NaCl 1 M) o por protamina sulfato. Aunque se han reportado experiencias en las que diversas apolipoproteínas modificaban la actividad de esta enzima, hasta la fecha aún no se ha identificado ningún activador de la LHE equivalente a los que representa la apo C II para la LPL.

Su actividad está regulada por varias hormonas, entre las que destacan los estrógenos, que la disminuyen, y los andrógenos, que la aumentan. Estos efectos explican la alta actividad de LHE que se detecta en el plasma postheparina de varones, muy superior que en mujeres. La actividad de LHE se correlaciona inversamente con las concentraciones plasmáticas de HDL₂ y la utilización terapéutica de estas hormonas o derivados de las mismas produce cambios recíprocos en los niveles de estas lipoproteínas y en la actividad de LHE, por lo que se considera que existe una relación causa efecto entre ambos parámetros. Correlacionado con ello se ha observado que la LHE hidroliza los triglicéridos y fosfolípidos con mayor efectividad en las HDL₂ que en las HDL₃, acción que, en conjunción con la de la proteína transferidora de lípidos neutros, permitiría la transformación de HDL₂ en HDL₃. Al mismo tiempo, al disminuir la relación fosfolípido/colesterol libre en la superficie de la HDL₂, la LHE facilitaría el flujo de colesterol libre desde estas lipoproteínas a las células del hígado o de glándulas esteroideogénicas. Recientemente se ha observado que la acción de la LHE facilita la expresión de diferentes epítomos de la apo A I sobre las HDL y de la apo B 100 sobre las LDL. Ello sugiere que fisiológicamente la acción de la LHE podría ser más sutil que catalizar la hidrólisis masiva de lípidos, permitiendo la «exteriorización» de zonas activas de las apolipoproteínas.

El papel de la LHE en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos está peor conocido: Sólo en uno de los tres casos con deficiencia congénita de esta enzima se observa una clara hipertrigliceridemia, con un acúmulo de VLDL pequeñas y de movilidad electroforética β , y un enriquecimiento en triglicéridos de las LDL y HDL. En otro de los casos se observaba un aumento de las IDL y una disminución de las LDL. Por otro lado, la administración de suero anti-LHE a animales experimentales, aparte de provo-

car un aumento del contenido de fosfolípidos, colesterol libre y apolipoproteínas en HDL₂ y un descenso en HDL₃, produce un aumento de la concentración de VLDL e IDL y un enlentecimiento en la transformación de IDL en LDL. Por otra parte, se ha descrito que los quilomicrones cuyos fosfolípidos han sido hidrolizados por la LHE, son captados eficientemente por el hígado, a diferencia de los intactos. Estas observaciones sugieren un importante papel de la LHE en el catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos que se puede concretar en que su acción sobre los fosfolípidos de las remanentes de quilomicrones y en las IDL puede constituir un requisito indispensable para permitir que la apo E o la B 100 sean reconocidas por el receptor correspondiente.

Dado el relevante papel de la LHE en el metabolismo de las lipoproteínas resulta paradójico, aparentemente al menos, el que sujetos con baja actividad de esta enzima (aunque no deficientes) muestren concentraciones altas de HDL y, por lo tanto, se encuentren en bajo riesgo de padecer enfermedad cardiovascular. Cabe la posibilidad de que aquella función importante como es la hidrólisis de los fosfolípidos de los remanentes de las lipoproteínas ricas en triglicéridos pueda ser ejercida por una baja actividad de LHE o bien que el papel de esta enzima pueda ser desempeñado por la LPL, dada su también reconocida actividad de fosfolipasa. Por el contrario, una alta actividad de LHE podría tener como consecuencia un rápido catabolismo de ciertas HDL. En cualquier caso se necesita un mayor aporte experimental para llegar al conocimiento de la función de la LHE.

SÍNTESIS Y SECRECIÓN DE QUILOMICRONES Y VLDL

Los quilomicrones se sintetizan en el enterocito a partir de los lípidos de la dieta fundamentalmente (fig. 3.2). Las VLDL, por el contrario, se sintetizan en el hígado a partir de lípidos endógenos, principalmente ácidos grasos biosintetizados en el propio órgano o bien reciclados, acumulados temporalmente en el tejido adiposo (fig. 3.3). Aparte de esa diferencia en cuanto a la procedencia de los lípidos, la formación y secreción de ambas lipoproteínas es análoga en el enterocito y el hepatocito, respectivamente (figs. 3.2 y 3.3). La apoproteína constituyente de ambas —la apo B— se ensambla con los lípidos en el retículo endoplásmico y la partícula se remodela en el aparato de Golgi al tiempo que se glicosilan las apolipoproteínas. De ahí se desprenden vesículas de secreción que contienen las lipoproteínas, que migran hacia la membrana y se fusionan con ella para liberar las partículas a los canales linfáticos (fig. 3.2) o al espacio de Disse (fig. 3.3), respectivamente. Existen dos formas de apo B: una de origen hepático, la B 100, y otra de origen intestinal, la B 48. Ambas proceden de un mismo gen, pero el mRNA correspondiente en el enterocito sufre una modificación por un mecanismo aún no determinado, que consiste en el cambio de una base de citosina por una de uridina, con lo que el codón que codifica para Gln (CAA) en posición 2153 de la apo B 100, da lugar a un codón de parada (UAA). La apo B 48

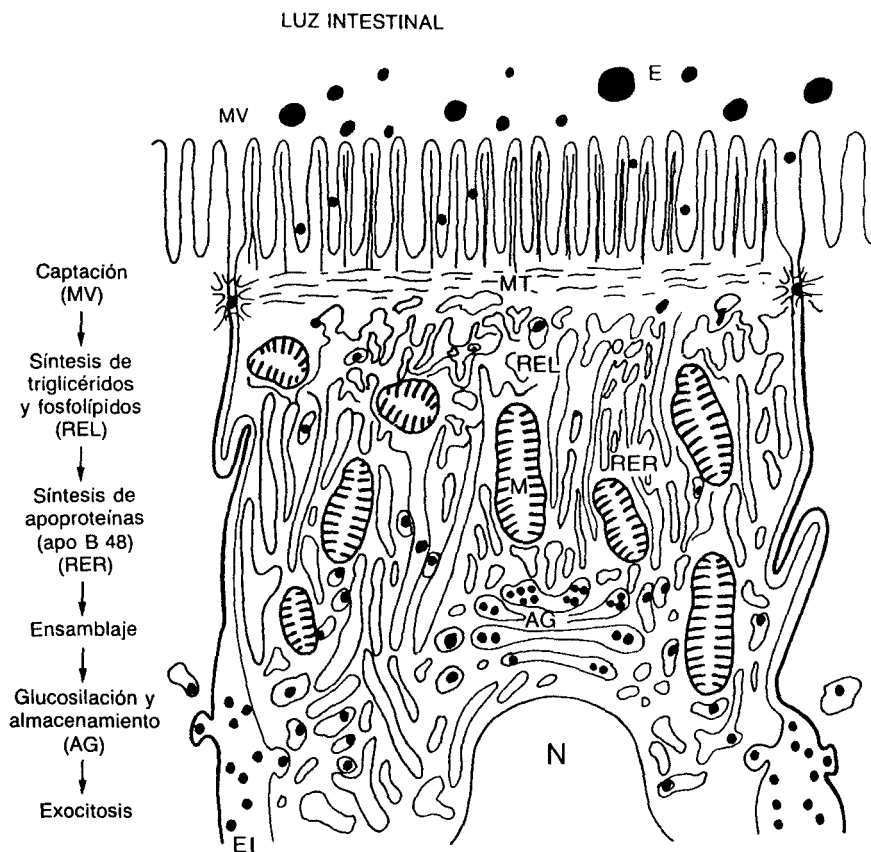


Fig. 3.2. Síntesis de quilomicrones en el enterocito. Representación esquemática de la región apical de un enterocito activo. E, emulsión lipídica; MV, microvellosidades; MT, malla terminal; REL, retículo endoplásmico liso; RER, retículo endoplásmico rugoso; M, mitocondria; AG, aparato de Golgi; N, núcleo; EI, espacio intersticial (vaso linfático mesentérico). Los puntos negros representan partículas lipídicas en general.

posee un peso molecular (264 Kd) que es el 48 % del de la B 100 (549 Kd), correspondiente a los primeros 2153 aminoácidos y carece del dominio de reconocimiento por el receptor B 100: E. Como se ha indicado, las apos B son constituyentes esenciales de quilomicrones y VLDL, de manera que su deficiencia conlleva la ausencia de esas lipoproteínas y de sus productos. Esto se observa en la abetalipoproteinemia y en la hipobetalipoproteinemia. Esta última se debe a una alteración en el gen de la apo B, mientras que el locus de la anomalía genética en la abetalipoproteinemia está todavía por determinar. En ambas alteraciones se observa un bloqueo en la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos, con las consiguientes consecuencias en la malabsorción grasa y la deficiencia de vitaminas liposolubles (como vitamina A y vitamina E).

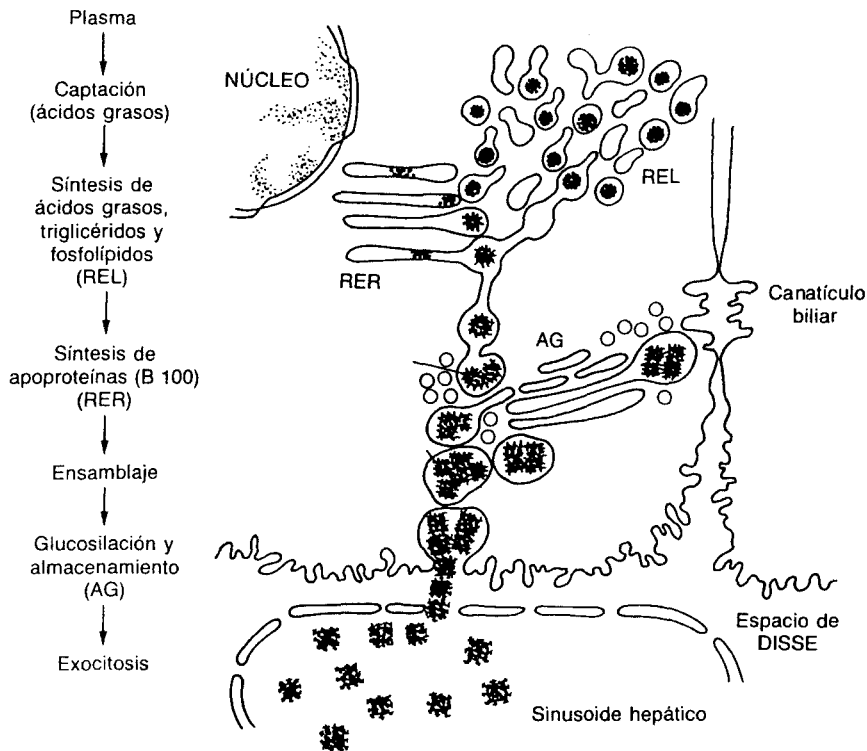


Fig. 3.3. Síntesis de VLDL en el hepatocito. Representación esquemática de la síntesis, ensamblaje y secreción de VLDL. REL, retículo endoplásmico liso; RER, retículo endoplásmico rugoso; AG, aparato de Golgi. Los puntos negros representan partículas lipídicas (VLDL).

Dependiendo del flujo de triglicéridos el enterocito sintetiza y segrega quilomicrones de tamaños muy diversos; en general, cuando la absorción es más activa, se sintetizan las lipoproteínas mayores, con mayor contenido de triglicéridos pero con la misma dotación de apolipoproteínas. Algo similar ocurre en hígado con las VLDL; de manera que el estímulo de la secreción de triglicéridos no se asocia invariablemente con una mayor tasa de secreción de apo B. Esta respuesta se observa también en ciertas hipertrigliceridemias humanas o en la incubación de células Hep G2 con grandes cantidades de oleato, en donde se segregan VLDL grandes, muy cargadas de triglicéridos, pero la tasa de secreción de apo B es normal.

Los quilomicrones son segregados a los vasos linfáticos mesentéricos, de ahí pasan al conducto torácico y se incorporan a la circulación general a nivel de la vena subclavia. Las VLDL son segregadas al espacio de Disse y atraviesan los poros de los sinusoides hepáticos para llegar a la circulación general.

Aparte de una molécula de apo B 48, los quilomicrones que se detectan en linfa contienen otras muchas apoproteínas aunque en menor proporción

en masa. Algunas, como las apos A I, A II, A IV, son sintetizadas por el propio enterocito; por el contrario, la mayor parte de las apos C y la apo E proceden de otras lipoproteínas, probablemente HDL, por transferencia. Por lo que respecta a las VLDL, contienen una sola molécula de apo B 100 y numerosas de apos C y E. Aunque el hígado sintetiza estas últimas, las VLDL recién segregadas (o nacientes) contienen escasa proporción de ellas y se enriquecen de las mismas al entrar en contacto con las HDL del plasma. Recientemente se ha observado que la adquisición de apo E por las VLDL requiere una modificación específica en la apo B 100, que es inducida por acción de las lipasas sobre las lipoproteínas. Esta ganancia de apolipoproteínas no está mediada por ninguna otra proteína y tras este proceso las lipoproteínas quedan en disposición de interactuar con la LPL (por la apo C II) y con receptores celulares (por la apo E), aunque su aclaramiento temprano está prevenido por su contenido en apo C III, como comentaremos más adelante. De manera que esta transferencia de apos C y E desde las HDL a los quilomicrones y VLDL se constituye en paso importante en el devenir de estas lipoproteínas puesto que va a permitir iniciar su catabolismo.

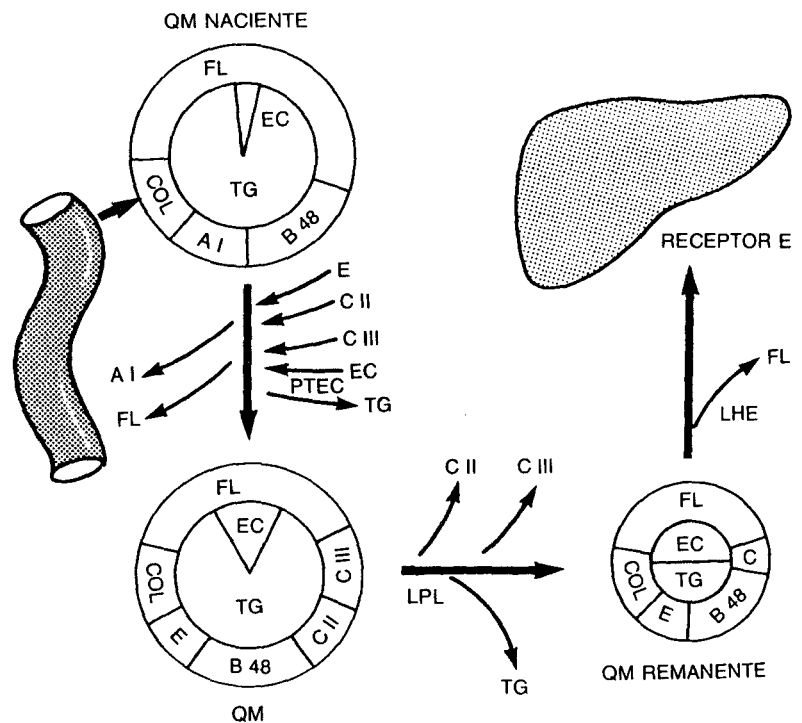


Fig. 3.4. Esquema del metabolismo plasmático de los quilomicrones. QM, quilomión; TG, triglicéridos; FL, fosfolípidos; COL, colesterol libre; EC, colesterol esterificado; LPL, lipoproteína lipasa; LHE, lipasa hepática endotelial; PTEC, proteína transferidora de ésteres de colesterol; A I, B 48, C, C II, C III y E, apoproteínas.

LIPOLISIS DE QUILOMICRONES Y VLDL

La hidrólisis de los triglicéridos de estas lipoproteínas es el proceso prominente de su metabolismo y corre a cargo de la LPL. En las figuras 3.4 y 3.5 se recogen sendos esquemas sobre el metabolismo plasmático de los quilomicrones y las VLDL, respectivamente. Sobre una lipoproteína actúan simultáneamente varias moléculas de enzima, lo que conduce a una rápida hidrólisis de sus triglicéridos. Así, en humanos, la vida media de los triglicéridos de quilomicrones se ha estimado en 5-15 min, mientras que varía de 0,5 a 4 horas en VLDL. Simultáneamente a la pérdida de triglicéridos se despren-

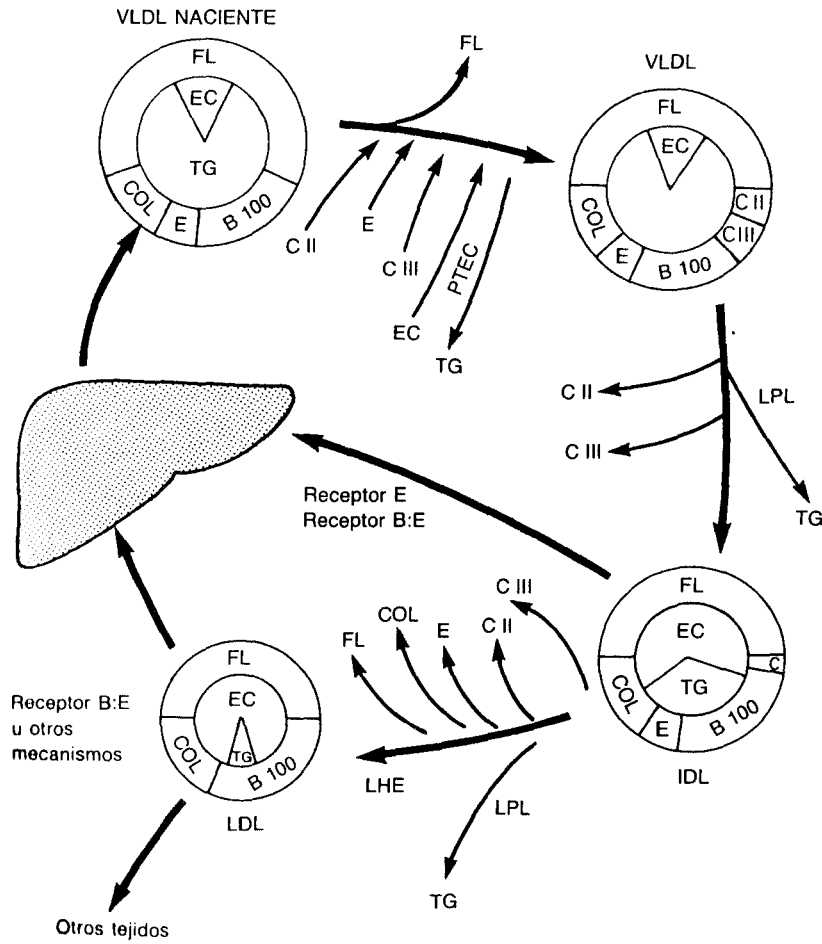


Fig. 3.5. Esquema del metabolismo plasmático de las VLDL. TG, triglicéridos; FL, fosfolípidos; COL, colesterol libre; EC, colesterol esterificado; LPL, lipoproteína lipasa; LHE, lipasa hepática endotelial; PTEC, proteína transferidora de ésteres de colesterol; B 100, C, C II, C III y E, apoproteínas.

den fosfolípidos, colesterol libre y apolipoproteínas de la superficie de aquellas lipoproteínas, acomodándose el material de superficie a lo que resta de triglicéridos y colesterol esterificado y permitiendo la reestructuración de una partícula más pequeña y densa. *In vitro* se ha observado la formación de estructuras con forma de capas en la superficie de lipoproteínas ricas en triglicéridos sometidas a la acción de la LPL, estructuras que luego se desprenden y dan lugar a partículas similares a las HDL discoidales nacientes. Otros autores han observado también que la hidrólisis de las VLDL por la LPL permite que las HDL₃ se transformen en partículas menos densas que, con la participación adicional de la LCAT, dan lugar a lipoproteínas equivalentes a las HDL₂. Este proceso metabólico explica la correlación positiva que se ha observado entre actividad de LPL y niveles de HDL₂ en humanos y es un exponente de las interrelaciones metabólicas entre las diferentes clases de lipoproteínas.

Otra parte de los fosfoacilglicéridos de quilomicrones y VLDL son hidrolizados por la LPL o por la LHE en la propia lipoproteína y los lisofosfolípidos correspondientes son recogidos por una proteína específica que los enlaza o por la propia albúmina, para ser transportados al hígado. Este proceso da cuenta de la disminución de la relación fosfatidilcolina/esfingomielina que acontece en el catabolismo de estas lipoproteínas.

Por acción de la proteína transferidora de lípidos neutros (LTP-I), también llamada proteína transferidora de éteres de colesterol (PTEC), los quilomicrones y las VLDL en proceso de degradación participan en un intercambio molecular con las HDL, de tal manera que reciben éteres de colesterol y ceden triglicéridos en una estequiometría de 1 a 1. Se ha podido establecer que las VLDL de mayor tamaño (y con mayor contenido en triglicéridos) son los aceptores preferenciales de los éteres de colesterol de las HDL pero no se conoce el papel exacto de cada una de las múltiples subpoblaciones de HDL en este proceso de intercambio. En definitiva, por la acción combinada de la LPL y de la PTEC, las VLDL y los quilomicrones se transforman en lipoproteínas residuales progresivamente más pobres en triglicéridos y más ricas en éteres de colesterol. Es destacable el hecho de que ciertas especies, como la rata o el cerdo, poseen escasa o nula actividad de PTEC. Independientemente de si es por falta de síntesis o por la presencia de un inhibidor, la ausencia de actividad de PTEC significa una importante diferencia en el metabolismo y la composición de las VLDL entre aquellas especies y el hombre; explica, por ejemplo, que las VLDL de rata sean proporcionalmente más ricas en triglicéridos con respecto a éteres de colesterol y, también, que la composición de ácidos grasos en los éteres de colesterol y en los triglicéridos sea similar entre VLDL y HDL en humanos (por la homogenización de estos lípidos entre las diferentes lipoproteínas que establece la acción de la PTEC), a diferencia de lo que ocurre en la rata.

Los cambios que se operan en la superficie de las VLDL y quilomicrones tienen importantes consecuencias para el posterior procesamiento de estas partículas. Por un lado, la pérdida de apo C II probablemente convierte a la partícula en peor sustrato para la LPL, determinando tal vez una mayor participación de la LHE en la lipólisis. A este respecto, ya hemos comentado ante-

riormente que la LHE parece estar implicada en el metabolismo de las VLDL pequeñas y de las IDL, mediando en la transformación de éstas en LDL. En lo que se refiere a la apo E, ésta parece transferirse a las HDL a un ritmo más lento que la apo C. Esto determina que las lipoproteínas en proceso de degradación tengan una relación apo E/apo C progresivamente mayor, lo que incide de nuevo en la peor calidad de sustrato de estas lipoproteínas hacia la LPL, a la vista del papel inhibitorio de la apo E. Por otra parte, esta aumentada relación apo E/apo C favorece la interacción de estas partículas remanentes con los receptores celulares.

El desarrollo de todos estos procesos conduce a la formación de quilomicrones remanentes (fig. 3.4) y de IDL (fig. 3.5) a partir de los quilomicrones y las VLDL, respectivamente. Los quilomicrones remanentes son aclarados por el hígado mediante un proceso mediado por receptores de alta afinidad, mientras que las IDL, al menos en parte, prosiguen su metabolismo en el plasma para dar lugar a las LDL. En este proceso de transformación de VLDL en LDL, la partícula inicial pierde aproximadamente el 98 % de sus triglicéridos, 80 % de los fosfolípidos, 90 % del colesterol libre y prácticamente la totalidad de la apo C y la apo E, pero mantiene la molécula de apo B 100, lo que confiere entidad a la lipoproteína. La VLDL también pierde ésteres de colesterol en gran medida aunque éste sea el componente principal de las LDL. Basado en estudios *in vitro* se ha propuesto que la PTEC transfiere moléculas de ésteres de colesterol desde las LDL (o IDL) recién sintetizadas a las VLDL de mayor tamaño, intercambiándolas por triglicéridos; posteriormente, la LPL actúa sobre estas LDL (o IDL) hidrolizando los triglicéridos; de esta manera las LDL e IDL pierden progresivamente ésteres de colesterol y van disminuyendo en tamaño. Un fenómeno similar ocurre con las HDL. Por lo tanto, la integración de la acción de la LPL y la PTEC es responsable principal de la disminución del tamaño de las LDL y de las HDL, actuando las VLDL como reservorio de los ésteres de colesterol que aquéllas desprenden. Esto permite comprender, a su vez, el que en ciertas situaciones de hipertrigliceridemia (por aumento de la concentración de VLDL) se detecten LDL y HDL enriquecidas en triglicéridos e inusualmente pequeñas.

Se admite que prácticamente la totalidad de las LDL proceden de las IDL y, a su vez, de las VLDL. Por el contrario, no todas las VLDL dan lugar a LDL. Así, en humanos, entre el 40 y el 90 % de la apo B 100 de las VLDL aparece en la fracción de LDL, por lo que el resto es aclarado del plasma en la fase de IDL. Esto sugiere la existencia de una heterogeneidad metabólica en el seno de las VLDL y, de hecho, se ha demostrado que las VLDL que mayoritariamente contribuyen a la formación de LDL son las que se segregan a la circulación como partículas de pequeño tamaño, mientras que las mayores, una vez degradadas por la LPL, son principalmente aclaradas sin llegar a transformarse en LDL. En este sentido, se conoce que las VLDL grandes contienen por término medio mayor número de moléculas de apo E por partícula, lo cual podría favorecer su temprano aclaramiento de la circulación al ser reconocidas por el receptor hepático. En la rata la proporción de apo B de las VLDL que aparece en LDL es de tan sólo el 5 %, lo que explica, al menos en parte, la baja concentración de LDL que presenta. En esta espe-

cie parece existir una segregación metabólica entre las VLDL que contienen apo B 1 (equivalente a la B 48) y las que contienen apo B h (equivalente a la B 100). A diferencia de lo que ocurre en humanos, el hígado de rata sintetiza ambas formas de apo B, si bien las incorpora a partículas de VLDL diferentes e, incluso, varía la proporción de unas respecto a otras según el estado nutricional. En cuanto a su metabolismo en el plasma, las que contienen apo B 1 se aclaran de la circulación sin dar lugar a LDL, de modo que la apo B que se encuentra en las LDL es del tipo B h. En conjunto, el comportamiento de las VLDL con apo B 1 en la rata recuerda el de los quilomicrones (tanto de la propia rata como de humanos); dado que aparentemente no hay otras diferencias importantes entre estas lipoproteínas y las VLDL con apo B h (o apo B 100), podría aventurarse que la apo B 1 (o la apo B 48, en humanos) determina el rápido catabolismo de las partículas que la poseen; este efecto, no obstante, debe ser indirecto puesto que esta apoproteína no es reconocida por receptor alguno.

CAPTACIÓN POR RECEPTORES HEPÁTICOS

La cesión de los lípidos que transportan las lipoproteínas a los diversos tejidos se realiza mediante dos categorías de procesos. Hasta ahora hemos comentado el primero de ellos, la lipólisis de triglicéridos y fosfoacilglicéridos a cargo de la LPL y la LHE, por la cual se liberan ácidos grasos que pueden ser captados por las células. Tras este procesamiento lipolítico de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, las partículas residuales (quilomicrones remanentes e IDL) interactúan con receptores específicos de membrana, lo que desencadena un proceso de endocitosis que conduce a la degradación última de estas lipoproteínas en los lisosomas (fig. 3.6). Hay dos tipos principales de receptores que protagonizan este proceso de captación celular: el receptor E, exclusivamente hepático, y el receptor B 100: E, presente en la gran mayoría de células. El receptor *scavenger* no parece desempeñar un papel relevante en el metabolismo de estas lipoproteínas, por lo que no se considerará en este capítulo. En el esquema general de metabolismo de estas lipoproteínas se considera que los quilomicrones remanentes, conteniendo el colesterol exógeno, son captados a través del receptor E, mientras que las partículas derivadas de las VLDL, cuyo colesterol es fundamentalmente de síntesis endógena, son captadas gracias a su unión al receptor B 100: E (fig. 3.6). No obstante, consideremos esto como una simplificación dirigida a la mejor comprensión de este aspecto del metabolismo más que una deducción experimental.

Independientemente del tipo de receptor, el hígado es el órgano principal en la captación y degradación última de los quilomicrones remanentes y de las IDL. El papel prominente corresponde a los hepatocitos pero también las células no parenquimales, como las endoteliales y las células de Kupffer, participan en este proceso.

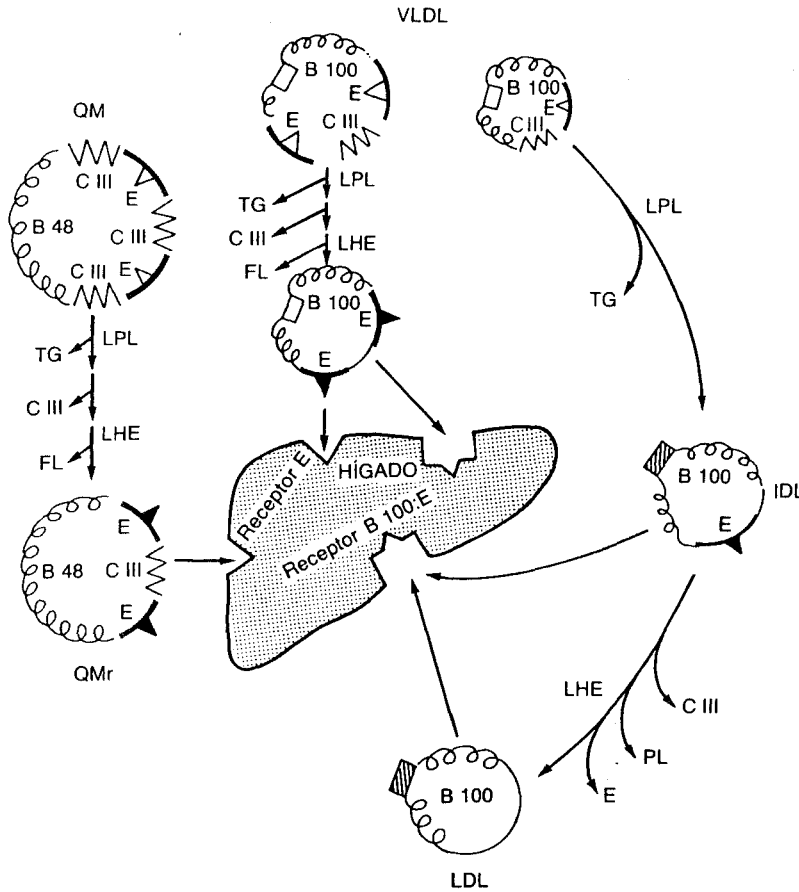


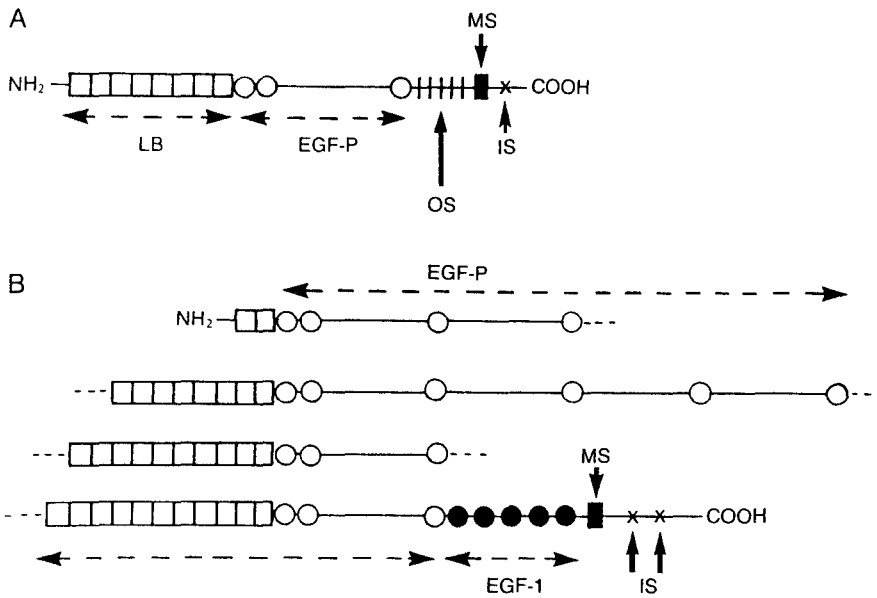
Fig. 3.6. Esquema sobre el cambio de configuración de las apoproteínas B 100 y E y su reconocimiento por los respectivos receptores. QM, quilomicrón; QMr, quilomicrón remanente; TG, triglicéridos; FL, fosfolípidos; LPL, lipoproteína lipasa; LHE, lipasa hepática endotelial; B 48, B 100, C III y E, apoproteínas.

Receptor E

La extracción de los quilomicrones remanentes del plasma se realiza en el hígado a través de un mecanismo mediado por un receptor de alta afinidad. Este receptor es el denominado de «quilomicrones remanentes» o receptor E debido a que su ligando es la apo E. El papel de la apo E viene puesto de manifiesto por el hecho de que los quilomicrones carentes de esta apoproteína son captados por el hígado a una tasa muy inferior que los nativos. Por otra parte, en sujetos homocigóticos para apo E2 (isoforma de la apo E que no es reconocido por este receptor), el aclaramiento de los quilomicrones remanentes está enlentecido y llega a detectarse apo B 48 en el rango de densidad de las LDL, hecho que no ocurre en los sujetos que presentan la apo

E funcional (apo E3 o apo E4). Otra evidencia indirecta es la competencia por la unión a este receptor entre los quilomicrones remanentes y las HDL-c (HDL cuya apoproteína principal es la apo E) o la propia apo E purificada, pero no con las LDL. Parece claro, por lo tanto, que el ligando de este receptor debe ser la apo E; no obstante, todavía falta una explicación convincente sobre porqué en pacientes deficientes en apo E o en los anteriormente comentados E2/E2, el catabolismo de los quilomicrones no se bloquee de una manera más intensa.

La existencia de este receptor E, con entidad diferente del receptor de LDL (o receptor B 100: E), se puso de manifiesto por la observación de que en pacientes homocigóticos de hipercolesterolemia familiar así como en conejos WHHL (todos ellos deficientes en receptor LDL) el aclaramiento de los quilomicrones remanentes no estaba alterado. La demostración directa de este receptor ha sido extremadamente dificultosa porque el receptor de LDL también enlaza apo E con una afinidad incluso superior que la propia apo B 100. Inicialmente, en preparaciones crudas de membranas de hepatocitos, se detectaron varias proteínas con PM entre 56 y 58 kD que enlazaban apo E, pero se demostró que se trataban de enzimas intracelulares. Más recientemente, mediante el estudio de la unión de liposomas de apo E a células intactas, y entrecruzando covalentemente los complejos formados, se ha reconocido que la apo E se enlaza a una única proteína de unos 600 kD, que es inmunológicamente indistinguible de la LRP o proteína relacionada con el receptor LDL, descubierta en el estudio de la biblioteca de cDNA del linfocito de ratón. El gen de la LRP presenta una secuencia con una alta homología con la del receptor LDL; concretamente posee cuatro copias del dominio de reconocimiento y del dominio homólogo al precursor del EGF que se encuentran en el receptor LDL, cada una de ellas conteniendo múltiples copias del fragmento rico en cisteína (fig. 3.7). Aun habiéndose demostrado que la LRP es una proteína de membrana y que enlaza apo E con alta afinidad, falta por determinar su especificidad, es decir, debería demostrarse que no enlaza LDL y que la unión de la apo E se inhibe por la lactoferrina, como ocurre en la captación hepática de los quilomicrones remanentes. Hay otras características de la LRP que merecen ser resaltadas: en primer lugar, la LRP reconoce con igual afinidad la apo E2 que la apo E3, en claro contraste con el receptor LDL; esto podría explicar por qué ciertos pacientes homocigóticos para apo E2 no muestran hiperlipemia cuando su apo E no es reconocida por el receptor LDL. La unión de la apo E a la LRP no depende del calcio, al igual que la captación de los quilomicrones remanentes por su receptor hepático. Otra evidencia circunstancial que apoya la identidad de la LRP con el receptor E estriba en que la región del promotor del gen de LRP no contiene ningún elemento regulado por esteroides del tipo que se encuentra en el receptor LDL (así como en los genes de la HMG-CoA reductasa y la HMG-CoA sintasa), lo que concuerda con la observación de que, a diferencia de lo que ocurre con el receptor LDL, la expresión del receptor E y de la LRP no está inhibida por esteroides. Aun con todo se ha observado que la LRP se expresa en diversos tejidos y no exclusivamente en hígado, que es donde se degradan los quilomicrones remanentes. En resumen, por el momento podemos asumir que



Regiones con homología con el receptor B 100:E

Fig. 3.7. Esquema comparativo de las estructuras del receptor B 100: E (receptor LDL) y de la proteína relacionada con el receptor LDL (LRP, hipotético receptor E). Estas estructuras se basan en el análisis del cDNA correspondiente. A) el receptor B 100: E: está constituido por el dominio de unión (LB) (que contiene siete repeticiones de una secuencia rica en Cys, el dominio EGF-P (con una alta homología con el precursor del factor de crecimiento epidérmico, que también contiene tres repeticiones de una secuencia rica en Cys), el dominio de unión a carbohidratos (OS), el dominio de incursión en la membrana (MS) y la señal de internalización (IS). B) LRP: la región extracelular está constituida por cuatro copias del dominio de unión (LB) y del dominio EGF-P del receptor B 100: E (cada uno con numerosas repeticiones de secuencias ricas en Cys), y el dominio EGF-1 (con alta homología con el factor de crecimiento epidérmico); también se distinguen el dominio MS y dos copias del IS. (Modificado de Soutar, 1989.)

la LRP es efectivamente un precursor o el propio receptor E del hígado, aunque quedan algunas incógnitas por despejar.

Este receptor interacciona también con ciertas VLDL, a través de su apo E. Así, en los conejos WHHL las VLDL grandes (50 a 80 nm de diámetro), al igual que los remanentes de quilomicrones, son eliminados de la circulación a una tasa normal, mientras que las VLDL pequeñas lo son a una velocidad muy lenta, a pesar de que ambos tipos contienen una molécula de apo B 100. Esta observación se ha interpretado en el sentido de que el factor determinante de la tasa de reconocimiento por el receptor E es, precisamente, el número de moléculas de apo E que se localizan en cada partícula, dado que las VLDL grandes contienen mayor dotación de esta apoproteína. No obstante, el tamaño de la lipoproteína no puede ser el único factor importante porque los quilomicrones remanentes son captados por el hígado a la misma velocidad tanto si son pequeños como grandes.

Debemos recordar aquí que para la eficiente interacción de la apo E de los quilomicrones o de las VLDL con su receptor, las lipoproteínas deben haber perdido, parte de su dotación original de apo C III e hidrolizados, parte de sus fosfoacilglicéridos por acción de la LHE (fig. 3.6). Una vez reconocidos por el receptor, los quilomicrones remanentes son internalizados por endocitosis y degradados sus componentes en los lisosomas.

Receptor B 100:E

En este apartado comentaremos sólo algunos aspectos de este receptor, aquéllos que interesan para demostrar su función en la captación de VLDL e IDL por el hígado, dado que su función y estructura serán ampliamente tratadas en el capítulo siguiente.

Aunque está presente en la mayoría de tipos celulares, y en algunos a mayor densidad incluso que en el hepatocito, el hígado es el órgano que mayor actividad de este receptor posee en términos absolutos. De hecho, dicho órgano da cuenta del 60-70 % de la desaparición de la LDL del plasma y de la práctica totalidad de las IDL. La presencia de este receptor en la membrana del hepatocito se ha identificado en términos de la especificidad, requerimiento de iones calcio así como la sensibilidad a la pronasa de la unión de las LDL, por el *Western blotting* con ligandos que contienen apo B 100 y con anticuerpos específicos contra el receptor LDL.

La primera evidencia de la participación del receptor B 100: E en la captación de IDL fue la observación del acúmulo de IDL y VLDL pequeñas (aparte de LDL) en conejos WHHL —deficientes en este receptor. Además, la administración de 17- α -etinil estradiol a ratas o conejos —que produce un marcado aumento del número de receptores B 100: E en hígado— acelera la captación hepática de estas lipoproteínas. Si bien estos datos apoyan el protagonismo de este receptor en la captación de IDL en situaciones fisiológicas, el hecho de que los pacientes homocigóticos con hipercolesterolemia familiar no suelen presentar aumento de sus VLDL residuales o IDL, sugiere que esas partículas pueden ser catabolizadas a través de otro mecanismo independiente del receptor B 100: E (probablemente el receptor E).

Las VLDL y las IDL poseen las dos apolipoproteínas que reconoce este receptor, la apo B 100 y la apo E, por lo tanto, potencialmente ambas pueden mediar en la captación de estas lipoproteínas. La cuestión es determinar la importancia relativa de ambas y hacia qué tipo de lipoproteínas se dirige este receptor. El número total de ligandos por partícula parece ser un factor a tener en cuenta. En términos generales dicho número decrece progresivamente desde las VLDL de mayor tamaño, las cuales contienen más moléculas de apo E y una de apo B 100, hasta las LDL, con tan sólo una molécula de apo B 100. Así, las VLDL grandes dan lugar a remanentes que se aclaran rápidamente de la circulación sin apenas transformarse en LDL, mientras que las VLDL inicialmente más pequeñas se aclaran a menor velocidad y constituyen los precursores mayoritarios de las LDL, las cuales, por su parte, permanecen en el plasma por períodos más prolongados. Esto resulta especial.

mente cierto en el caso de las VLDL de individuos hipertriglicéridémicos, las cuales contienen mayor número de moléculas de apo E que las VLDL de individuos normales, lo que les permite interaccionar y ser captadas mediante el receptor B 100: E independientemente del tamaño de la partícula, a diferencia de las VLDL normales, donde sólo las más pequeñas (Sf 20-60) poseen tal propiedad. Así se explica que las VLDL de hipertriglicéridémicos sean eliminadas de la circulación en mayor proporción que las VLDL normales. En resumen, podemos admitir en cuanto a la captación de las VLDL e IDL por el receptor B 100: E, que en las partículas grandes la apo E es el ligando principal y sólo en las más metabolizadas y pequeñas la apo B 100 actúa como ligando.

El hecho de que el receptor de LDL enlace también la apo E permite que los quilomicrones remanentes puedan ser reconocidos y, posteriormente, internalizados por el receptor LDL hepático, como así se ha demostrado en diferentes aproximaciones experimentales. De manera que la importancia relativa de ambos receptores, el E y el B 100: E, en cuanto a la captación hepática de quilomicrones remanentes en la situación fisiológica normal, queda aún por establecer definitivamente.

En los pacientes con hiperlipoproteinemia tipo III se acumulan en el plasma VLDL con migración electroforética β (pre- β -VLDL), que son lipoproteínas relativamente ricas en ésteres de colesterol y apo E, comparables a las IDL. Este fenómeno se interpreta por el no reconocimiento de su apo E2 por alguno de los receptores hepáticos. A la vista de que el hipotético receptor E, la LRP, reconoce tanto la apo E2 como la E3, mientras que el receptor B 100: E únicamente reconoce el isoformo E3, podría deducirse que la captación de las VLDL pequeñas o las IDL se realiza fundamentalmente por el receptor B 100: E y que el ligando principal es la apo E. A favor de esta última interpretación está el hecho de que en los pacientes con una apo B 100 alterada (en donde el aminoácido 3500 es Gln en vez de Arg), que no es reconocida por el receptor B 100: E, no se detecte acúmulo de VLDL o IDL.

Parece probable, por lo tanto, que el receptor B 100: E participa fisiológicamente en el aclaramiento de las VLDL pequeñas e IDL y que el ligando es la apo E. Pero la presencia de esta apoproteína (o de la apo B 100) en aquellas lipoproteínas no es suficiente para la interacción con el receptor. Esto es evidente cuando se considera que los quilomicrones intactos o las VLDL no son captadas por el hígado hasta que no han sufrido un cierto grado de hidrólisis a cargo de la LPL o la LHE. Los cambios en la composición y el tamaño que se producen durante el metabolismo plasmático de aquellas lipoproteínas permiten adquirir a la apo B 100 y la apo E la conformación y el grado de exposición adecuados para su interacción con los receptores (fig. 3. 6). Existen evidencias de que la inmunoreactividad de la apo B 100 se incrementa con la reducción en el tamaño de las VLDL y en éstas es menor que en las LDL. Asimismo la lipólisis *in vitro* de VLDL de gran tamaño (Sf 120-400) induce la expresión de ciertos epítomos de la apo B 100, haciendo posible su interacción con el receptor B 100: E de fibroblastos. En el caso de la apo E, la variabilidad en la expresión de distintos epítomos en las VLDL se ha puesto de manifiesto incluso dentro de rangos de tamaño relati-

vamente estrechos. Acorde con estos fenómenos, en los individuos normolipémicos la capacidad de interacción y captación mediante el receptor B 100: E de fibroblastos únicamente se manifiesta en las VLDL de menor tamaño (Sf 20-60), las IDL y las LDL, mientras que las VLDL mayores (Sf 60-400) requieren una hidrólisis previa a cargo de la LPL (fig. 3.6).

Estos cambios en la expresión de las apolipoproteínas que actúan como ligandos están directamente relacionados con la pérdida de otros constituyentes de la superficie de la lipoproteína. Así, la depleción en apo C acelera la captación hepática de los remanentes de los quilomicrones y VLDL, dado que las distintas apos C poseen la capacidad de inhibir dicho proceso. En las VLDL la expresión de dos epítomos concretos de la apo E, los cuales se localizan en las mediaciones del sitio de unión a los receptores, se correlaciona directamente con la relación apo E/apo C en dichas lipoproteínas. Por otra parte, la hidrólisis de los fosfolípidos de los quilomicrones por la LHE es el factor principal para que estas partículas sean reconocidas por los receptores hepáticos, aunque no se altere apreciablemente el contenido de apo C o de otras apoproteínas. De manera que podemos pensar que la reestructuración de la lipoproteína conforme va perdiendo tamaño o la hidrólisis de determinados fosfolípidos, permite la adecuada exposición del dominio de reconocimiento de las apoproteínas apo B 100 y/o E y, con ello, su interacción con los receptores (fig. 3.6).

En las VLDL de individuos hipertriglicéridémicos (VLDL-HTG) se han detectado dos poblaciones de moléculas de apo E. Una de éstas es resistente a la hidrólisis por trombina y es inaccesible a los receptores B 100: E, por lo que parece estar enmascarada dentro de estas lipoproteínas. Esta población de apo E también se encuentra en las VLDL de individuos normolipémicos, en el mismo rango de tamaños de partícula. La segunda población, la cual no se detecta en las VLDL normales, es sensible a la hidrólisis por trombina y es la apoproteína que posibilita el reconocimiento de las VLDL-HTG de Sf 60-400 por los receptores B 100: E. En este rango de tamaños la apo B 100 no presenta la conformación adecuada para ser reconocida por los receptores B 100: E, lo cual es válido tanto para las VLDL-HTG como para las VLDL normales. Por lo tanto, la apo E es el principal, si no el único, ligando responsable de la interacción de las VLDL-HTG de Sf 60-400 con el receptor B 100: E. No obstante, no todas las partículas VLDL-HTG de un mismo rango de tamaño o tasa de flotación poseen la apo E suficientemente «expuesta» como para permitir su reconocimiento por el receptor. Por otra parte, en las VLDL más pequeñas (Sf 20-60), tanto de hipertriglicéridémicos como de normales, la apo B 100 adquiere la conformación que le faculta interactuar con el receptor, de manera que la apo B 100 se convierte en el ligando preferencial con una menor participación de la apo E, para ser luego aquélla el único ligando en las IDL y en las LDL.

.....

En suma, los quilomicrones se sintetizan en el enterocito a partir de los lípidos de la dieta, que se ensamblan con la apo B 48 y otras apolipoproteínas. En la circulación adquieren apo C II, que es el activador de la LPL, y apo E, que

actuará como ligando del receptor E hepático. Sus triglicéridos son hidrolizados en el lumen capilar por acción de la LPL y ello determina una reducción del tamaño, la pérdida de apoproteínas y otros componentes lipídicos y la adecuada exposición de la apo E en la superficie de la partícula. A este último proceso contribuye también la LHE hidrolizando fosfoacilglicéridos. El quilomacrón remanente, rico en ésteres de colesterol, interactúa con el receptor E hepático (probablemente, la LRP) y es internalizado y degradado en los lisosomas.

Las VLDL se sintetizan en el hígado al ensamblarse lípidos de síntesis endógena (fundamentalmente triglicéridos) con apo B 100. Se segregan como una población ampliamente heterogénea en tamaños y composición, que se acentúa por efecto de su metabolismo en el plasma. Al igual que los quilomicrones, sufren la acción de la LPL, que hidroliza sus triglicéridos y permite la captación de los ácidos grasos por las células de los tejidos. En su devenir en el plasma pierden apoproteínas solubles, fosfolípidos y colesterol libre que son recogidos por ciertas subpoblaciones de HDL, al tiempo que se enriquecen en ésteres de colesterol por acción de la PTEC. A su paso por los sinusoides hepáticos, la LHE hidroliza fosfoacilglicéridos de las VLDL, contribuyendo a su degradación lipolítica y remodelación. Las VLDL más pequeñas, parcialmente hidrolizadas pero que conservan suficiente apo E y adecuadamente expuesta, interactúan con el receptor E o bien con el receptor B 100: E hepático, siendo eliminadas de la circulación. Una parte de las VLDL prosiguen en el plasma transformándose en IDL que, gracias a su apo B 100 pueden ser captadas a través del receptor B 100: E hepático, o bien se transforman en LDL por pérdida de la totalidad de las apoproteínas solubles.

Bibliografía

- ARBEENY, C. M. y RIFICI, V. A.: «The uptake of chylomicron remnants and very low density lipoprotein remnants by the perfused rat liver». *J Biol Chem*; 259: 9662-9666, 1984.
- BEISEGEL, U.; WEBER, W.; HAVINGA, J. R.; IHRKE, G.; HUI, D. Y.; WERNETTE-HAMMOND, M. E.; TURCK, C. W.; INNERARITY, T. L. y MAHLEY, R. W.: «Apolipoprotein E-binding proteins isolated from dog and human liver». *Arteriosclerosis*; 8: 288-297, 1988.
- BEISEGEL, U.; WEBER, W.; IHRKE, G.; HERZ, J. y STANLEY, K. K.: «The LDL-receptor-related-protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein». *Nature*; 341: 162-164, 1989.
- BORINSZTAJN, J. GETZ, G. S. y KOTLAR, T. J.: «Uptake of chylomicron remnants by the liver: further evidence for the modulating role of phospholipids». *J Lipid Res*; 29: 1087-1096, 1988.
- BRADLEY, W. A.; HWANG, S. L.C.; KARLIN, J. B.; LIN A. H. Y.; PRASAD, S. C.; GOTTO, A. J. Jr. y GIANTURCO, S. H.: «Low-density lipoprotein receptor binding determinants switch from apo-E to apo-B during conversion of hypertriglyceridemic VLDL to low-density lipoproteins». *J Biol Chem*; 259: 14728-14735, 1984.
- BROWN, M. S. y GOLDSTEIN, J. L.: «A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis». *Science*; 232: 34-47, 1986.

- CISAR, L. A.; HOOGWERF, A. J.; CUPP, M.; RAPPORT, C. A. y BENSADOUN, A.: «Secretion and degradation of lipoprotein lipase in cultured adipocytes. Binding of lipoprotein lipase to membrane sulfate proteoglycans is necessary for degradation». *J Biol Chem*; 264: 1767-1774, 1989.
- COLLET, X.; MARCEL, Y. L. y PERRET, B. X.: «Phospholipase A2 (PLA2) modulates the expression of apo A1 in HDL-subfractions». X Inter Symposium on Drugs affecting Lipid Metabolism, Milan, pg 116 (abstract 659), 1989.
- DECKELBAUM, R. J.; EISENBERG, S.; OSCHRY, Y.; GRANOT, E.; SHARON, I. y BENGTSSON-OLIVECRONA, G.: «Conversion of human plasma high density lipoprotein-2 to high density lipoprotein-3. Roles of neutral lipids exchange and triglyceride lipases». *J Biol Chem*; 261: 5201-5208, 1986.
- DOOLITTLE, M. H.; WONG, G.; DAVIS, R. C. y SCHOTZ, M. C.: «Synthesis of hepatic lipase in liver and extrahepatic tissues». *J Lipid Res*; 28: 1326-1334, 1987.
- EISENBERG, S.: High density lipoprotein metabolism». *J Lipid Res*; 25: 1017-1058, 1984.
- EISENBERG, S.: «Plasma lipoprotein conversions». En SEGREST, J. P. y ALBERS, J. J. ed. *Methods in Enzymology*. Londres, Academic Press; 129: 347-366, 1986.
- GIAN TURCO, S.; BROWN, F. B.; GOTTO, A. M. Jr. y BRADLEY, W. A.: «Receptor-mediated uptake of hypertriglyceridemic VLDL by normal human fibroblasts». *J Lipid Res*; 23: 984-993, 1982.
- GINSBERG, N. H.; LE, N. A.; GOLDBERG, I. J.; GIBSON, J. C.; RUBINSTEIN, S.; WANG-IVERSON, P.; NORUM, R. y BROWN, W. V.: Apolipoprotein B metabolism in subjects with deficiency of apolipoproteins C-III and A-I. Evidence that apolipoprotein C-III inhibits catabolism of triglyceride rich lipoproteins by lipoprotein lipase». *J Clin Invest*; 78: 1287-1295, 1986.
- GÓMEZ-CORONADO, D.; LASUNCIÓN, M. A. y HERRERA, E.: «Efecto de la apolipoproteína E sobre la hidrólisis de una emulsión de triglicéridos por la lipoproteína lipasa». *Clin Invest Arteriosclerosis* 1; (supl 1): 12-13, (abstract), 1989.
- HAVEL, R. J. y HAMILTON, R. L.: «Hepatocytic lipoprotein receptors and intracellular lipoprotein catabolism». *Hepatology*; 8: 1689-1704, 1988.
- HERRERA, E.; GÓMEZ-CORONADO, D. y LASUNCIÓN, M. A.: «Lipid metabolism in pregnancy». *Biol Neonate*; 51: 70-77, 1987.
- HUETTINGER, M.; RETSEK, H.; EDER, M. y GOLDENBERG, H.: «Characteristics of chylomicron remnant uptake into rat liver». *Clin Biochem*; 21: 87-92, 1988.
- ISHIKAWA, Y.; FIELDING, C. J. y FIELDING, P. E.: «A change in apo-B expression is required for the binding of apo-E to VLDL». *J Biol Chem*; 263: 2744-2749, 1988.
- JACKSON, R. L.: «Lipoprotein lipase and hepatic lipase». En BOYER, P. B. ed., *The Enzymes*, Londres, Academic Press, 16: 141-181, 1983.
- JANSEN, H. y HULSMANN, W. C.: «Enzymology and physiological role of hepatic lipase». *Biochem Soc Transac*; 13: 24-26, 1985.
- KITA, T.; GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S.; WATANABE, Y.; HORNICK, C. A. y HAVEL, R. J.: «Hepatic uptake of chylomicron remnants in WHHL rabbits: a mechanism genetically distinct from the low density lipoprotein receptor». *Proc Nat Acad Sci USA*; 79: 3623-3627, 1982.
- KLEINMAN, Y.; KRUL, E. S.; BURNES, M.; ARONSON, W.; PFLERGER, B. y SCHONFELD, G.: «Lipolysis of LDL with phospholipase A2 alters the expression of selected apo B-100 epitopes and the interaction of LDL with cells». *J Lipid Res*; 29: 729-743, 1988.
- KNOBLER, H.; CHAJEK-SAUL, T.; STEIN, O.; ETIENNE, J. y STEIN, Y.: «Modulation of lipoprotein lipase in the intact rat by cholera toxin, an irreversible agonist of cyclic AMP». *Biochim Biophys Acta*; 795: 363-371, 1984.
- KRUL, E. S.; TIKKANEN, M. J. y SCHONFELD, G.: «Heterogeneity of apo-E epitops»

- expression on human lipoproteins: importance for apo-E function». *J Lipid Res*; 29: 1309-1325, 1988.
- KUUSI, T.; EHNHOLM, C.; VIKARI, J.; HÄRKÖNEN, R.; VATIAINEN, E.; PUSKA, P. y TASKINEN, M. R.: «Postheparin plasma lipoprotein and hepatic lipase are determinants of hypo- and hyperalphalipoproteinemia». *J Lipid Res*; 30: 1117-1126, 1989.
- LASUNCIÓN, M. A. y HERRERA, E.: «Effect of pregnancy on the uptake of lipoprotein triglyceride fatty acids by isolated adipocytes in the rat». *Biochem Biophys Res Commun*; 98: 227-233, 1981.
- LASUNCIÓN, M. A. y HERRERA, E.: «Changes with starvation in the rat of the lipoprotein lipase activity and hydrolysis of triacylglycerols from triacylglycerol-rich lipoproteins in adipose tissue preparations». *Biochem J*; 210: 639-643, 1983.
- LASUNCIÓN, M. A.; LLOBERA, M. y HERRERA, M.: «Morphological and compositional changes of rat plasma triglyceride-rich lipoproteins incubated with adipose tissue». *Arch Inter Physiol Biochim*; 89: 57-62, 1981.
- LIPPEL, K.; GIANTURCO, S.; FOGELMAN, A.; NESTEL, P.; GRUNDY, S. M.; FISHER, W.; CHAIT, A.; ALBERS, J. y ROHEIM, P. S.: «Lipoprotein heterogeneity workshop». *Arteriosclerosis*; 7: 315-323, 1987.
- LLOBERA, M.; MONTES, A. y HERRERA, E.: «Lipoprotein lipase activity in liver of the rat fetus». *Biochem Biophys Res Commun*; 91: 272-277, 1979.
- MAHLEY, R. W.; HUI, D. Y.; INNERARITY, T. L. y WEISGRABER, K. H.: «Two independent lipoprotein receptors on hepatic membranes of dog, swine and man». *J Clin Invest*; 68: 1197-1206, 1981.
- MCCONATHY, W. J. y WANG, C. S.: «Inhibition of lipoprotein lipase by the receptor-binding domain of apolipoprotein E». *FEBS Lett*; 251: 250-252, 1989.
- ONG, J. M.; KIRCHGESSNER, T. G.; SCHOTZ, M. C. y KERN, P. A.: «Insulin increases the synthetic rate and messenger mRNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes». *J Biol Chem*; 263: 12933-12938, 1988.
- OROZCO, E. LASUNCIÓN, M. A. y HERRERA, E.: «Hidrólisis química de la fosfatidilcolina de HDL₂ y HDL₃ por efecto de la lipasa hepática». *Clin Invest Arteriosclerosis*; 1 (supl 1): 19-20 (abstract), 1989.
- PACKARD, C. J.; MUNRO, A.; LORINER, A. R.; GOTTO, A. M. y SHEPHERD, J.: «Metabolism of apo-B in large triglyceride-rich VLDL of normal and hypertriglyceridemic subjects». *J Clin Invest*; 74: 2178-2192, 1984.
- PARKIN, S. M.; SPEAKER, B. K. y ROBINSON, D. S.: «Turnover of lipoprotein lipase in fat adipose tissue». *Biochem Soc Transac*; 13: 139, 1985.
- PRADINES-FIGUERES, A.; VANNIER, C. y AILHAUD, G.: «Short term stimulation by insulin of lipoprotein lipase secretion in adipose cells». *Biochem Biophys Res Commun*; 154: 982-990, 1988.
- RAMÍREZ, I.; LLOBERA, M. y HERRERA, E.: «Circulating triacylglycerols, lipoproteins, and tissue lipoprotein lipase activities in rat mothers and offspring during the perinatal period: effect of postmaturity». *Metabolism*; 32: 333-341, 1983.
- ROBINSON, D. S. y SPEAKE, B. K.: «Role of insulin and other hormones in the control of lipoprotein lipase activity». *Biochem Soc Transac*; 17: 40-42, 1989.
- SCHONFELD, G. y KRUI, E. S.: «Immunologic approaches to lipoprotein structure». *J Lipid Res*; 27: 583-601, 1986.
- SOUTAR, A. K.: «Second receptor verified?» *Nature*; 341: 106-107, 1989.
- TREZZI, E.; CALVI, C.; ROMA, P. y CATAPANO, A. L.: «Subfractionation of human VLDL by heparin-sepharose affinity chromatography». *J Lipid Res*; 24: 790-795, 1983.
- WINDLER, E. E. T.; GREEVE, J.; DAERR, W. H. y GRETEN, H.: «Binding of rat chylomicrons and their remnants to the hepatic low-density-lipoprotein receptor and its role in remnant removal». *Biochem J*; 252: 553-561, 1988.