

PAPEL DE LA LIPOPROTEINA LIPASA DE LA PARED VASCULAR EN EL METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS RICAS EN TRIGLICERIDOS

EMILIO HERRERA, MIGUEL A. LASUNCIÓN, DIEGO GÓMEZ-CORONADO y ENRIQUE OROZCO*

* Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Alcalá de Henares y Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

INTRODUCCION

Desde el punto de vista conceptual, el metabolismo de las lipoproteínas se ha dividido en dos sistemas: exógeno y endógeno, que respectivamente transportan los lípidos de origen dietético y hepático. Estos dos sistemas se encuentran íntimamente relacionados entre sí, ya que en el torrente circulatorio tiene lugar el continuo intercambio de componentes de unas lipoproteínas en otras. En la Figura 1 hemos resumido

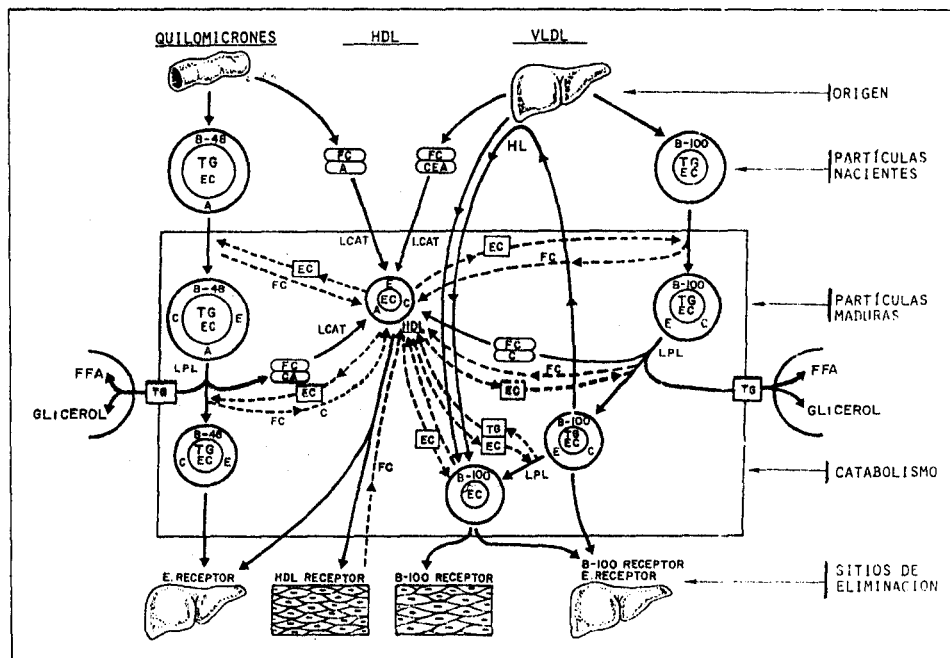


Fig. 1.—Esquema general del metabolismo de las principales lipoproteínas. La zona encuadrada corresponde al intercambio de componentes entre las distintas lipoproteínas, que tiene lugar en plasma.

de forma esquemática estas interrelaciones, destacando los sitios de origen, maduración y catabolismo. En intestino e hígado se forman las respectivas partículas nacientes, que al salir a la sangre maduran mediante el intercambio de componentes entre distintas lipoproteínas. La lipoproteína lipasa (LPL) cataliza la hidrólisis de gran parte de los triglicéridos transportados por quilomicrones y VLDL, y los productos de la misma, ácidos grasos libres (FFA) y glicerol, quedan libres en plasma o son captados por los correspondientes tejidos, para su posterior metabolización (reesterificación y acúmulo, u oxidación para aporte energético). Esta pérdida de triglicéridos viene asociada también con el intercambio de otros componentes, convirtiéndose los quilomicrones en "remanentes" y las VLDL en IDL, y posteriormente en LDL. Esta última transformación puede llevarse a cabo por acción de la propia LPL y/o por la participación de la lipasa hepática (HL), aunque se ha propuesto también que el propio hígado puede llegar a sintetizar directamente dichas LDL (Figura 1). Estos intercambios constituyen el catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, ya que a través de ellos son transformadas respectivamente en "remanentes" y LDL, que son reconocidas por receptores específicos para su captación por los distintos tejidos, y eliminación de la circulación.

METABOLISMO DE LOS TRIGLICERIDOS DE LAS VLDL

El origen hepático de las VLDL se pone claramente de manifiesto en experimentos de hepatectomía. Nosotros hemos demostrado que la hepatectomía funcional en la rata en ayunas da lugar a una rápida disminución de los niveles de triglicéridos circulantes, y ello corresponde específicamente a una disminución paralela de las VLDL, sin cambio alguno en lipoproteínas de mayor densidad (1). Es obvio pensar que dichos triglicéridos se sintetizan en el propio hígado a partir de distintos sustratos endógenos. Una considerable proporción de ellos se forman a partir de los productos de la lipólisis que llegan al hígado del tejido adiposo, FFA y glicerol. De hecho, mediante experimentos de trasplante hepático en el cerdo, hemos podido comprobar que durante la fase anhepática se produce un rápido incremento de los niveles de dichos productos en plasma, mientras que reinstauración de la función hepática tras el trasplante hace que los mismos reviertan a la normalidad (2). Este tipo de experimentos, y el hecho de que la administración intravenosa de ácido palmítico y glicerol radioactivos a la rata da lugar a la aparición de triglicéridos radioactivos en las VLDL circulantes (3), permiten llegar a la conclusión de que los productos de la lipólisis del tejido adiposo constituyen sustratos importantes liberados a la

circulación en forma de VLDL. El proceso se resume de forma esquemática en la Figura 2, donde se pone de manifiesto que dichos triglicéridos son también sintetizados en el propio hígado a partir de los productos de la lipogénesis (acil-CoA) y del α -glicerol-fosfato derivado por otras vías metabólicas (glucólisis y/o gluconeogénesis). Independientemente de su procedencia, esos triglicéridos formados en el hígado se acoplan con colesterol, fosfolípidos y apoproteínas, para sintetizar partículas nacientes de VLDL. El colesterol que se incorpora a VLDL procede parcialmente de la dieta, ya que se deriva de la captación hepática de los «remanentes» de quilomicrones, la cual es mediada por receptores. Cuando este proceso es insuficiente, el hígado sintetiza su propio colesterol, incrementando la actividad de la enzima que controla el proceso, la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. Las partículas nacientes de VLDL formadas salen a los sinusoides hepáticos a través del conducto de Disse, y en cuanto estas partículas entran en la circulación, intercambian componentes con otras lipoproteínas (4), en forma particular con las HDL. Los productos de este intercambio se ceden preferentemente de la capa externa de dichas lipoproteínas, como se resume en la Figura 3, de entre ellos caben destacar la cesión de apoproteínas C y E y de colesterol esterificado (EC, en la figura) de las HDL a las VLDL, y la de colesterol libre (FC, en la figura), en el sentido de las VLDL a las HDL. El proceso es facilitado por la acción

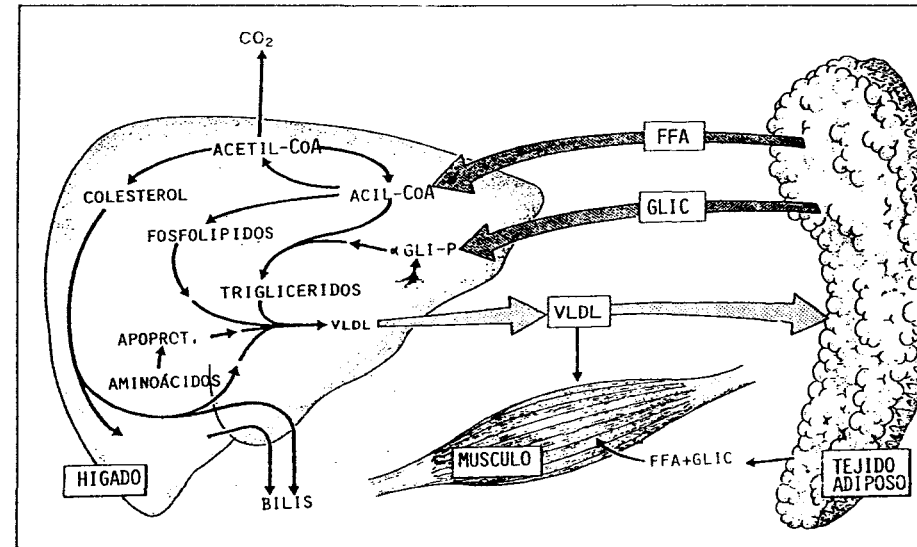


Fig. 2.—Utilización de los productos de la lipólisis del tejido adiposo para la síntesis de triglicéridos de VLDL en el hígado y su interconexión con otras vías metabólicas.

la enzima lecitin colesterol acil transferasa (LCAT), ya que cataliza la esterificación del colesterol, permitiendo así el intercambio de FC y EC entre ambas lipoproteínas. En el proceso también participa la «proteína transferidora de lípidos neutros», que facilita el paso de colesterol esterificado de las HDL a las VLDL (Figura 3: EC encuadrado, indicando la participación de dicha proteína). La adquisición de dichos componentes por las VLDL nacientes significa su maduración a VLDL propiamente dichas (o «VLDL maduras»). Entre las apos C que han recibido se encuentra la apo C-II, que es cofactor para la acción catalítica de la lipoproteína lipasa (LPL). Posteriormente dedicaremos atención específica a esta enzima, pero siguiendo el esquema general del metabolismo de las VLDL (Figura 3), ahora nos limitaremos a indicar que por acción de la LPL, las VLDL pierden una gran proporción de sus triglicéridos, que son hidrolizados a FFA y glicerol, para quedar de esta forma en sangre o ser captados por los correspondientes tejidos para su posterior metabolización. Al perder componentes del centro de la partícula, las VLDL se deforman⁵, y de una forma que se considera pasiva, continúan intercambio componentes de su superficie con las HDL, llegando a ser transformadas en lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)⁶. Las IDL pueden seguir dos vías distintas: a) ser reconocidas por los receptores de apo-E hepáticos, y de esta forma ser catabolizadas, o b) ser transformadas en LDL, bien directamente mediante el intercam-

bio de componentes con las HDL, el cual no está claro si se realiza forma espontánea o mediado por la acción de la propia LPL, o bien con la participación de la lipasa hepática (HL) (Figura 3). Al ser reconocidas por los receptores de la apo B-100, las LDL son captadas por los distintos tejidos, y de esta forma eliminadas de la circulación.

LIPOPROTEINA LIPASA

Esta enzima es una acil-glicerol hidrolasa (EC 3.1.1.34), que fue inicialmente identificada como «factor aclarador del plasma», al reducir turbidez del plasma hipertriglicéridémico tras la administración intravenosa de heparina⁷. Ahora tenemos una amplia información sobre características estructurales de esta enzima⁸, aunque aún quedan aspectos por esclarecer. En el organismo se encuentra en todos los tejidos donde se ha buscado, pero mientras que es especialmente activa en tejido adiposo y otros tejidos extrahepáticos (músculo cardíaco, músculo esquelético, pulmón, médula renal, aorta y glándula mamaria durante la lactancia), su actividad es baja en el hígado. La LPL se sintetiza de forma preferente (aunque no exclusiva) en las células parenquimatosas de estos tejidos, y recientemente también se ha demostrado que se sintetiza en macrófagos (9). Como se resume en la Figura 4, cuando trozos de tejido adiposo o adipocitos aislados se incuban *in vitro* en presencia de heparina, la enzima es liberada al medio de incubación. En el caso de los adipocitos, que han tenido que ser obtenidos por tratamiento con colagenasa, la heparina no modifica la actividad de la enzima que detecta intracelularmente, mientras que incrementa su actividad en medio de incubación (Figura 4), haciendo como si al ser liberada al medio, la enzima intracelular hubiera «madurado», pasando a una forma activa. Este tipo de experimentos, realizados en nuestro laboratorio (10, 11), y otros realizados por diversos autores, llevaron a la conclusión de que la LPL se sintetiza intracelularmente de forma inactiva, y segregada al endotelio capilar, donde se ancla por moléculas de glucosaminoglicanos, del tipo de heparan sulfato. En este proceso de secreción al espacio extracelular, la enzima modifica su estructura, lo que conlleva su activación (12). Olivecrona y col. (13) propusieron que la LPL se une a los polímeros de heparan sulfato mediante interacciones electrostáticas, extendiéndose entre 20 y 50 nm de la superficie endotelial. De esta forma, la enzima tiene acceso a su sustrato, VLDL y quilomicrones, al que reconoce y se une para llevar a cabo su acción catalítica gracias a su activación por la apo C-II que se localiza en la superficie de dichas lipoproteínas.

En experimentos *in vitro* con lipoproteína lipasa purificada y VL

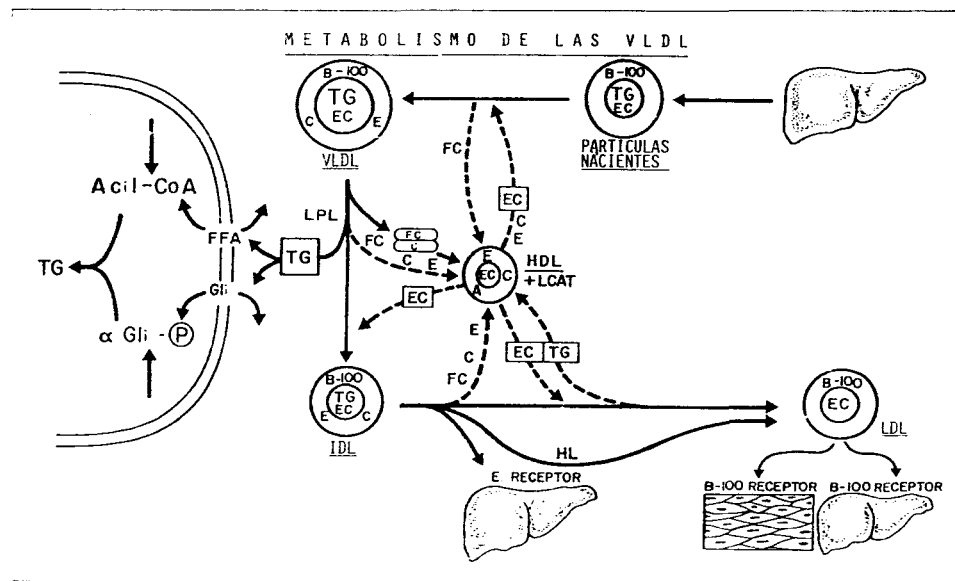


Fig. 3.—Esquema del metabolismo de las VLDL en el organismo.

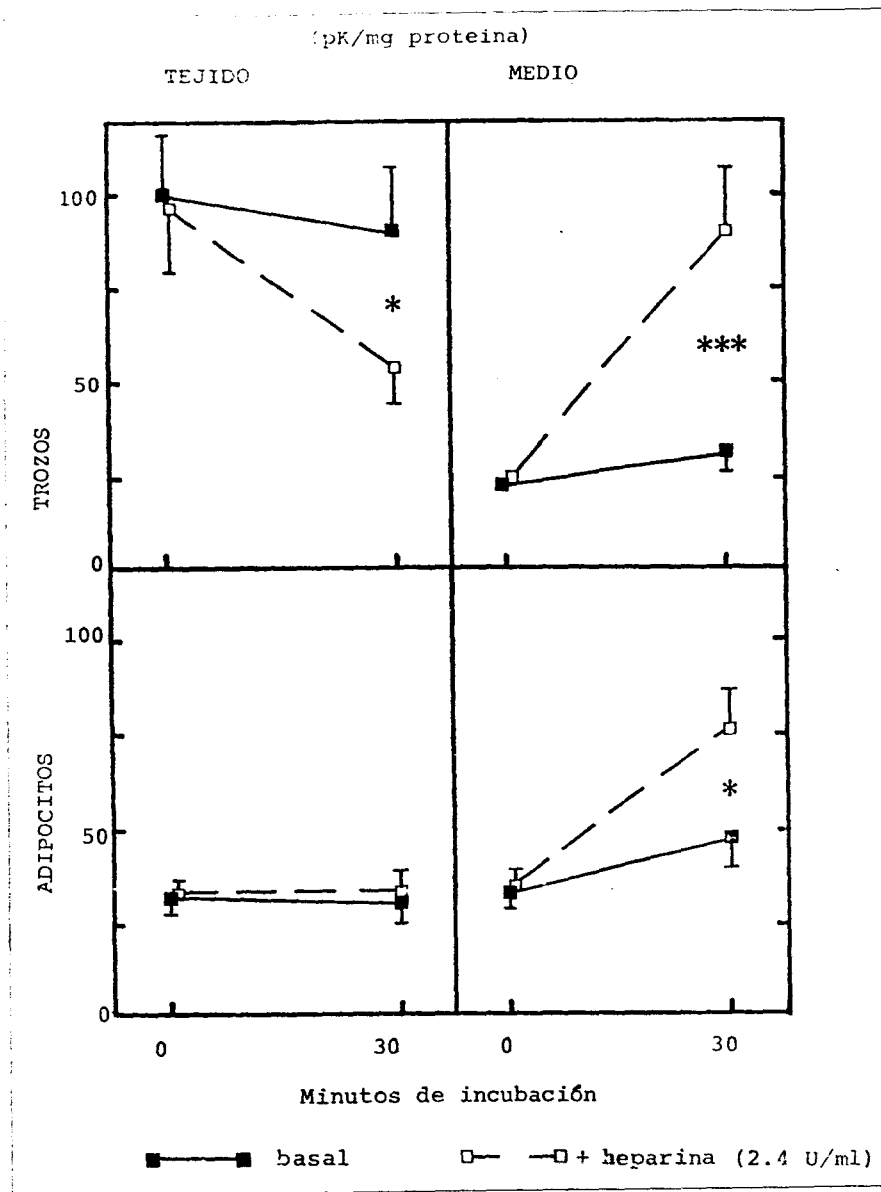


Fig. 4.—Actividad LPL en tejido adiposo de rata incubado "in vitro" en presencia o ausencia de heparina. Adipocitos aislados por tratamiento con collagenasa o trozos de tejido adiposo epididimal procedentes de las mismas ratas, se incubaron en Krebs-Ringer bicarbonato, pH 7.4, suplementado con albúmina bovina libre de ácidos grasos al 1%, en presencia o ausencia de heparina. La actividad LPL se determinó tanto en los medios como en los tejidos al inicio (tiempo 0) y a los 30 min de incubación.

marcadas con trioleína-H³, hemos observado que concentraciones de VLDL inducen un aumento de la hidrólisis de los triglicéridos, aunque no de forma totalmente lineal (Figura 5). Por extracción, la V_{max} de la LPL frente a las VLDL parece alcanzar concentraciones de triglicéridos del orden de 1,5 nM. La cinética muestra esta enzima, así como la lipasa hepática, se aparta de Michaelis-Menten y se aproxima a un fenómeno de cooperatividad negativa, como se muestra en la Figura 5. Esto debe ser reflejo del complejo sistema que se establece entre la LPL y su sustrato, que está regulado, en donde la acción de la enzima se ve enlentecida por la dificultad que le supone el contactar con otra nueva lipoproteína.

La LPL, al hidrolizar los triglicéridos de las VLDL, facilita la liberación de los productos de la misma, FFA y glicerol, por el tejido sustrato para su posterior metabolización. Esto se observa claramente en el tejido adiposo (11, 14), donde la actividad de la LPL es alta, pero su capacidad de metabolización de glicerol es baja (15) debido a su baja actividad glicerolquinasa. El control fisiológico de este proceso varía de forma muy distinta de unos tejidos a otros, y depende de numerosos factores que modifican la actividad de la enzima. De hecho, aunque es naturalmente la LPL es igual de unos tejidos a otros, su actividad varía en dirección opuesta en unos y otros ante la presencia de los mismos factores. Así, por ejemplo, mientras que el ayuno produce una disminución en la actividad de la enzima en tejido adiposo, aumenta la de corazón (16), y mientras que la insulina aumenta la del tejido adiposo, disminuye la de corazón y pulmón (17). Aún no se conoce el mecanismo por el que se produce esta distinta respuesta de la enzima de unos tejidos a otros ante un mismo efector.

PAPEL DE LA LIPOPROTEINA LIPASA EN EL DESTINO DE LOS TRIGLICERIDOS CIRCULANTES

El desarrollo ontogénico de la actividad LPL en los distintos tejidos pone de manifiesto la relación entre esta enzima y las necesidades de captación de triglicéridos por los distintos tejidos. Este es el caso de la actividad de la enzima en pulmón, cuya actividad aumenta de forma muy intensa desde el nacimiento, alcanzando en la rata recién nacida la misma actividad que el adulto (18), y ello indica el importante papel que juega la actividad de la enzima en la formación del surfactante pulmonar durante la etapa perinatal. Otro ejemplo es el de la LPL en tejido cerebro, donde la actividad cambia de forma paralela a la mielinización (18), facilitando así la captación de triglicéridos para este proceso. Nosotros hemos encontrado también un pico de actividad LPL en hígado durante la etapa perinatal.

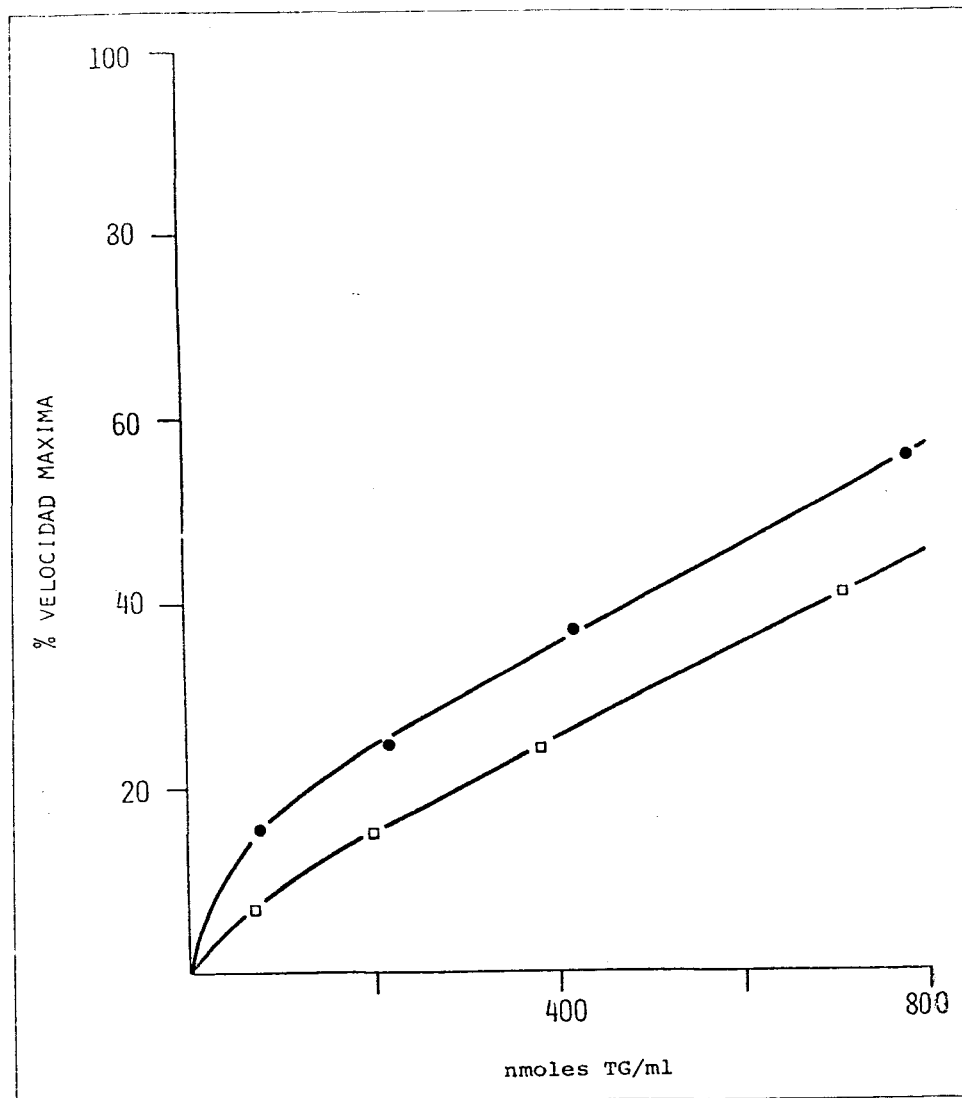


Fig. 5.—Efecto de la concentración de VLDL-trioleína-H3 sobre la velocidad de hidrólisis de la trioleína-H3 por la lipoproteína lipasa (\blacktriangle) y la lipasa hepática (\blacktriangledown). Las VLDL humanas se marcaron "in vitro" con trioleína-H3 y se incubaron en Tris 0.1 M, NaCl 0.18 M, albúmina libre de ácidos grasos al 4%, pH 8.2, durante 30 min a 37 C., en presencia de lipoproteína lipasa o lipasa hepática purificadas de plasma humano posheparínico mediante cromatografía de afinidad a la heparina. La velocidad de hidrólisis se determinó por la aparición de ácidos grasos libres-H3, descontando los obtenidos en ausencia de enzimas. La $V_{m\acute{a}x}$ se estimó mediante la linealización de los resultados.

en la rata (19), el cual aumenta cuando los recién nacidos se mantiene en ayunas, correlacionándose de forma diversa con los niveles circulantes de triglicéridos (20). Dicha LPL hepática facilita al recién nacido la captación por el hígado de triglicéridos circulantes, garantizando de esta forma su disponibilidad para mantener su activa cetogénesis.

En el adulto hemos encontrado también actividad LPL hepática, la cual aumenta en condiciones de intensa hipertrigliceridemia, como es el caso de la rata gestante en ayunas (21). Se ha demostrado que es inducida por la administración de "Intralipid" a la rata virgen en ayunas (22), y hemos observado recientemente que aumenta tras la administración de toxina colérica (23). Estos cambios de actividad LPL en hígado son coincidentes con cambios paralelos en el acúmulo de triglicéridos en el hígado e incremento de la cetogénesis, lo cual pone de manifiesto la interrelación entre estos procesos. Pensamos, sin embargo, que la inducción de actividad LPL hepática en el recién nacido se realiza por un mecanismo distinto a la del adulto hipertrigliceridémico: la primera por síntesis *de novo*, y la segunda por arrastre al hígado de la LPL extrahepática, junto a los productos de su acción catalítica sobre VLDL y quilomicrones, IDL y "remanentes", respectivamente. Esta suposición va teniendo cada vez más apoyo experimental, pero aún se encuentra en la fase de hipótesis.

Otro ejemplo del papel de la LPL en el destino de los triglicéridos circulantes lo tenemos en la gestación y la lactancia. Al final de la gestación, la madre presenta una importante disminución de actividad LPL en su tejido adiposo (24, 25), y ello contribuye a su mantenimiento de la hipertrigliceridemia. Poco antes del parto revierte ese aumento de triglicéridos circulantes, a pesar de que la actividad LPL en tejido adiposo continúa estando muy disminuida, lo que coincide con un incremento en la actividad LPL en glándula mamaria (25). De hecho, nosotros hemos observado que la captación por la glándula mamaria de triglicéridos radiactivos administrados a la rata gestante en esta etapa, aumenta de forma manifiesta (26). La directa interrelación entre estos factores la demostramos administrando progesterona a la rata preñada (25), que inhibe el pico de prolactina que tiene lugar poco antes del parto, el cual se conoce que es responsable de la inducción de la LPL en glándula mamaria. De esta forma, inhibiendo la inducción de LPL en glándula mamaria al final de la gestación, pudimos comprobar que no producía esa reversión de la hipertrigliceridemia de la madre (25). Ello permite concluir que en condiciones normales, la inducción de LPL en glándula mamaria es el mecanismo por el que la madre se prepara para la lactancia, facilitando la captación por dichas glándulas de los triglicéridos circulantes, para la formación de leche.

RESUMEN Y CONSIDERACIONES FINALES

En esta revisión hemos intentado poner de manifiesto el papel que desempeña la LPL en el destino de los triglicéridos circulantes, los cuales cuando son de origen endógeno (síntesis hepática de sustratos no-lipídicos y/o de los productos de la lipólisis, FFA y glicerol), lo hacen asociados a las VLDL. El efecto de distintos factores o situaciones fisiológicas sobre la actividad LPL varía de unos tejidos a otros. Así, mientras que en tejido adiposo la actividad de la enzima aumenta con la insulina y disminuye con el ayuno y la gestación, en corazón y músculo esquelético disminuye con la insulina y aumenta en situaciones de hipotrigliceridemia, con el ayuno, o por el tratamiento con glucocorticoides. En la glándula mamaria la enzima es inducida por la prolactina, y éste es el mecanismo por el que aumenta su actividad al final de la gestación. En hígado del recién nacido, la LPL se relaciona de forma inversa con los niveles de insulina, mientras que aumenta con la hipotrigliceridemia, como ocurría en la enzima de corazón, y su actividad es inhibida tras el tratamiento con insulina. A pesar de estas diferencias en la respuesta a distintos efectores, la LPL parece ser igual desde el punto de vista estructural en todos los tejidos, y no conocemos a qué se deben esas diferencias funcionales. La LPL no solamente hidroliza a los triglicéridos que circulan en plasma asociados a las lipoproteínas ricas en ellos, quilomicrones y VLDL, sino que facilita la captación de los productos de dicha hidrólisis por el tejido subyacente, canalizando así la utilización de los mismos en el organismo. El destino metabólico de esos productos, FFA y glicerol, varía también de unos tejidos a otros. Mientras que en tejido adiposo son utilizados para su reesterificación y acúmulo, constituyendo una importante reserva energética para el organismo, en músculo cardíaco y esquelético y en hígado del recién nacido son oxidados para su utilización como fuente inmediata de energía, en glándula mamaria se transforman en los lípidos de la leche, y en pulmón son sustratos para la síntesis del surfactante. Así pues, la LPL juega un papel clave en el metabolismo de las VDL y quilomicrones, tanto facilitando la transformación de estas lipoproteínas en otras de mayor densidad, que son finalmente eliminadas de la circulación, como modulando la canalizando de los triglicéridos que transportan a tejidos específicos, para su posterior metabolismo intracelular.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio ha sido realizado con ayudas de investigación de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, Ministerio

de Educación y Ciencia, del Fondo de Investigaciones Sanitarias, Seguridad Social, y del Comité Conjunto Hispano-Norteamericano de la Cooperación Científica y Tecnológica.

REFERENCIAS

1. J. ARGILÉS y E. HERRERA: Changes in lipid composition of plasma lip after total hepatectomy in the rat. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 89, pp. 1981.
2. T. MAMPEL, R. CAMPRODÓN, J. SOLSONA, V. JUCVÁ y E. HERRERA: CI circulation glycerol, free fatty acids and glucose following liver transpla pig. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 89, pp. 195-199, 1981.
3. S. CARMANIU y E. HERRERA: Conversion of (U-14C)-glycerol, (2-3H)-gly (1-14C)-palmitate into circulating lipoproteins in the rat. *Rev. Esp. Fisiol* 461-466, 1979.
4. R. J. HAVEL: Role of the liver in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 5, pp 1985.
5. M. A. LASUNCIÓN, M. LLOBERA y E. HERRERA: Morphological and com changes of rat plasma triglyceride-rich lipoproteins incubated with adip. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, 89, pp. 57-62, 1981.
6. N. RIFAI: Lipoproteins and apoproteins. Composition, metabolism, an tion with coronary heart disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 110, pp. 694-70
7. P. F. HAHN: Abolishment of alimentary lipemia following injection o. *Science* 98, pp. 19-22, 1943.
8. J. BORENSZTAJN, ed.: Lipoprotein lipase. Evener Publ., Chicago, 1987.
9. J. C. KHOO, E. M. MAHONEY y J. L. WITZTUM: Secretion of lipoprotein macrophages in culture. *J. Biol. Chem.*, 256, pp. 7105-7108, 1981.
10. M. A. LASUNCIÓN y E. HERRERA: Effect of heparin on the utilization i labelled glycerides from triglyceride-rich lipoproteins in rat adipose tis. *Int. Physiol. Biochem.*, 88, pp. 385-391, 1980.
11. M. A. LASUNCIÓN y E. HERRERA: Changes with starvation in the rat o protein lipase activity and hydrolysis of triacylglycerols from triacygl lipoproteins in adipose tissue preparations. *Biochem. J.*, 210, pp. 639-643
12. P. NILSSON-EHLE, A. S. GARFINKEL y M. C. SCHOTZ: Lipolytic en plasma lipoprotein metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*, 49, 667-693, 1980.
13. T. OLIVECRONA, G. BENGTTSSON, S. E. MARKLUND, U. LINDAHL y M. HO rin-lipoprotein lipase interactions. *Fed. Proc.*, 36, pp. 60-65, 1977.
14. M. A. LASUNCIÓN y E. HERRERA: In vitro utilization of labelled este acids in glyceride glycerol from triglyceride-rich lipoproteins in rat adip. *Horm. Metab. Res.*, 13, pp. 335-339, 1981.
15. M. PALACÍN, M. A. LASUNCIÓN y E. HERRERA: Utilization of glucose, al tate and glycerol as lipogenic substrates by periuterine adipose tissue. *Lipid. Res.*, en prensa.
16. A. CRYER, S. E. RILEY, E. R. WILLIAMS y D. S. ROBINSON: Effect of status on rat adipose tissue, muscle and post-heparin plasma clearing fa activities: their relationship to triglyceride fatty acid uptake by fat-c plasma insulin concentrations. *Clin. Sci. Mol. Med.* 50, pp.213-221, 1976

17. J. ARGILÉS y E. HERRERA: Effects of insulin on the disposal of ¹⁴C-labelled very low density lipoprotein triglycerides in intact and hepatectomized rats. *Diabetologia* 24, pp. 300-303, 1983.
18. M. LLOBERA: Metabolismo de lipoproteínas en la fase perinatal, en "Bioquímica Perinatal", E. HERRERA (ed.), Fundación Ramón Areces, Madrid, pp. 185-211, 1986.
19. M. LLOBERA, A. MONTES y E. HERRERA: Lipoprotein lipase activity in liver of the rat fetus. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 91, pp. 272-277, 1979.
20. D. R. GRINBERG, I. RAMÍREZ, S. VILARÓ, M. LLOBERA y E. HERRERA: Starvation enhances lipoprotein lipase activity in the liver of the newborn rat. *Biochem. Biophys. Acta*, 833, pp. 217-222, 1985.
21. X. TESTAR, M. LLOBERA y E. HERRERA: Increase with starvation in the pregnant rat of the liver lipoprotein lipase activity. *Biochem. Soc. Transact.*, 13, p. 134, 1985.
22. S. VILARÓ, M. REINA, I. RAMÍREZ y M. LLOBERA: Intralipid administration induces a lipoprotein lipase-like activity in the livers of starved adult rats. *Biochem. J.*, 236, pp. 273-278, 1986.
23. E. HERRERA, M. A. LASUNCÓN, D. GÓMEZ-CORONADO, P. ARANDA y M. ASUNCIÓN: Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and fate of circulating triglycerides in pregnancy. *A. J. Obst. Gynecol.*, en prensa.
24. M. A. LASUNCÓN y E. HERRERA: Effect of pregnancy on the uptake of lipoprotein triglyceride fatty acids by isolated adipocytes in the rat. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 98, pp. 227-233, 1981.
25. I. RAMÍREZ, M. LLOBERA y E. HERRERA: Circulating triacylglycerols, lipoproteins and tissue lipoprotein lipase activities in the rat mothers and offspring during the perinatal periods: effect of postmaturity. *Metabolism*, 32, pp. 333-341, 1983.
26. J. ARGILÉS y E. HERRERA: Appearance of circulating and tissular ¹⁴C-lipids after oral ¹⁴C-tripalmitate administration in the late pregnant rat. *Metabolism*, en prensa.