GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF GDAŃSK

Ewa Wieczorek-Breitzke

ROZPRAWA DOKTORSKA

Wpływ lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) na katabolizm lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) zależny od lipazy lipoproteinowej (LPL)

PhD THESIS

The impact of high-density lipoprotein (HDL) on the lipoprotein lipase (LPL)-mediated very-low-density lipoprotein (VLDL) catabolism

Praca została wykonana w
Zakładzie Chemii Klinicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor pracy:
Prof. dr hab. Maciej Jankowski
Promotor pomocniczy:
Dr hab. Agnieszka Ćwiklińska
Kierownik Zakładu Chemii Klinicznej:
Prof. dr hab. Maciej Jankowski

Gdańsk, 2023

STRESZCZENIE

Zaburzenia metabolizmu lipidów są jednym z głównych czynników ryzyka rozwoju miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych (CVD). Wzrost stężenia triglicerydów (TG) powyżej 150 mg/dl w stanie na czczo lub powyżej 175 mg/dl w stanie nie na czczo określane jako hipertriglicerydemia (HTG) wykazuje istotny wpływ na rozwój miażdżycy i CVD. Jedną z głównych przyczyn rozwoju HTG są zaburzenia osoczowego katabolizmu lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) zależnego od lipazy lipoproteinowej (LPL). Zaburzenia katabolizmu VLDL prowadzą do wydłużenia czasu retencji aterogennych remnantów VLDL w łożysku naczyniowym, co wpływa na zwiększone formowanie blaszek miażdżycowych, nasilenie procesów zapalnych i sprzyja dysfunkcji śródbłonka naczyń krwionośnych. Lipoproteiny wysokiej gęstości (HDL) wykazują działanie przeciwmiażdżycowe. Stanowią one heterogenną subpopulację cząstek, którą ze względu na gęstość można podzielić na subpopulację lekkich, dużych HDL-2 oraz gęstych, małych HDL-3, wykazujących odmienne funkcje metaboliczne. Osoczowy metabolizm VLDL i HDL jest ze sobą ściśle powiązany, dlatego HDL mogą wywierać istotny wpływ na utrzymanie prawidłowego stężenia TG we krwi.

Celem rozprawy doktorskiej była ocena wpływu HDL na efektywność katabolizmu VLDL zależnego od LPL, z uwzględnieniem rodzaju subpopulacji HDL (HDL-2 i HDL-3) oraz występowania zaburzeń lipidowych: hipercholesterolemii (HC) i hiperlipidemii mieszanej (HL).

W pracy wykorzystano lipoproteiny VLDL i HDL izolowane metodą ultrawirowania z surowic pacjentów z prawidłowym (normolipidemia – NL) i nieprawidłowym profilem lipidowym, bez objawów klinicznych miażdżycy układu sercowo-naczyniowego. VLDL inkubowano z LPL przy nieobecności lub w obecności HDL (HDL_T) lub subpopulacji HDL: HDL-2 lub HDL-3, przez 1 godz. w 37°C. Następnie remnanty VLDL oddzielano metodą immunoprecypitacji lub ultrawirowania i oceniano odsetek zhydrolizowanych TG oraz odsetek uwolnionych z VLDL powierzchniowych lipidów oraz apolipoprotein. Oceniano również ruchliwość elektroforetyczną remnantów VLDL.

Stwierdzono, że odsetek zhydrolizowanych triglicerydów VLDL (VLDL-TG) był niższy w grupach HC i HL średnio o około 6-7% ($p<0,01$), w porównaniu do badanych

z NL. Dla VLDL izolowanych od pacjentów z zaburzeniami lipidowymi (HC i HL) obecność HDL zwiększała efektywność lipolizy VLDL-TG średnio o 7-8% ($p<0,001$), a więc do poziomu obserwowanego dla VLDL izolowanych od osób z NL. W badaniach dotyczących wpływu subpopulacji HDL na katabolizm VLDL nie stwierdzono różnic w odsetku zhydrolizowanych VLDL-TG w obecności HDL-2 i HDL-3, natomiast rodzaj subpopulacji HDL wpływał na odsetek uwalnianych z VLDL składników lipidowych i białkowych materiału powierzchniowego. W obecności HDL-3 efektywność uwalniania składników powierzchniowych była większa niż w obecności HDL-2, szczególnie dla cholesterolu wolnego (26% vs. 18%, $p<0,05$) i apolipoproteiny E (43% vs. 18%, $p<0,001$). Stwierdzono również, że efektywność uwalniania składników powierzchniowych VLDL w obecności całkowitej frakcji HDL (HDL_T) zależała od stosunku cholesterolu HDL-2/HDL-3 i była znamiennie wyższa dla próbek o niskim stosunku cholesterolu HDL-2/HDL-3, ($p<0,05$). Wpływ obecności HDL i subpopulacji HDL na efektywność katabolizmu VLDL zaobserwowany w badaniach ilościowych został potwierdzony w badaniach ruchliwości elektroforetycznej remnantów VLDL.

Efektywność lipolizy VLDL u osób z nieprawidłowym profilem lipidowym (HC i HL) jest zmniejszona, co u osób z hipercholesterolemią może stanowić czynnik ryzyka rozwoju HTG, a w konsekwencji dodatkowy czynnik rozwoju miażdżycy. HDL pełnią ważną rolę w prawidłowym przebiegu katabolizmu VLDL zależnemu od LPL zwiększając efektywność tego procesu i mogą pełnić istotną rolę w spowalnianiu/zapobieganiu rozwojowi HTG. Obie subpopulacje HDL, aczkolwiek HDL-3 w większym stopniu, zwiększają uwalnianie lipidowo-białkowego materiału powierzchniowego z VLDL w czasie katabolizmu zależnego od LPL. Dysfunkcyjność HDL związana ze zmianami w ilości/składzie tych cząstek może wpływać na zmniejszenie efektywności katabolizmu VLDL nasilając aterogenność powstałych remnantów i prowadząc do wzrostu ryzyka rozwoju HTG i miażdżycy.

ABSTRACT

Lipid metabolism disorders are among the main risk factors for the development of atherosclerosis and cardiovascular diseases (CVD). The increase in TG concentration above 150 mg/dl in the fasting state or above 175 mg/dl in the non-fasting state, referred to as hypertriglyceridemia (HTG), has a significant impact on the development of atherosclerosis and, consequently, CVD. One of the main causes of HTG development is the disturbance of lipoprotein lipase (LPL)-mediated very low-density lipoproteins (VLDL) catabolism, which leads to an extension of the retention time of atherogenic VLDL remnants in the blood vessels, which in turn impacts the formation of atherosclerotic plaques, intensifies inflammatory processes and promotes endothelial dysfunction of the blood vessels. High-density lipoproteins (HDL) play an extremely important role in antiatherosclerotic activity. They constitute a heterogeneous subpopulation of particles that, due to their density, can be divided into a subpopulation of light, large HDL-2 and dense, small HDL-3 which exhibit different metabolic functions. The metabolism of VLDL and HDL is closely related, therefore, HDL may have a significant impact on maintaining the proper concentration of TG in the blood.

The aim of the present study was to assess the impact of HDL on the effectiveness of LPL-mediated VLDL catabolism by considering the type of the HDL subpopulation (HDL-2 and HDL-3) and the presence of coexisting lipid disorders: hypercholesterolemia (HC) and mixed hyperlipidemia (HL).

The materials used in the study were VLDL and HDL fractions isolated by ultracentrifugation obtained from the sera of subjects with normal lipid profiles (normolipidemia – NL) and disturbed lipid profiles without clinical signs of atherosclerosis of the cardiovascular system. VLDL were incubated with LPL in the absence or presence of HDL (HDL_T) or one of the HDL subpopulations: HDL-2 or HDL-3 for 1 hour at 37°C. Then, the VLDL remnants were separated by immunoprecipitation or ultracentrifugation, and the percentage of hydrolyzed TG and the percentage of surface lipids and apolipoproteins released from the VLDL were calculated. The relative electrophoretic mobility of the VLDL remnants was also assessed.

The percentage of hydrolyzed VLDL triglycerides (VLDL-TG) was significantly lower in the HC and HL groups, by an average of 6-7% ($p<0.01$), compared to the

subjects with NL. In the groups with lipid disorders, the presence of HDL increased the effectiveness of VLDL-TG lipolysis, by an average of 7-8% ($p<0.001$), to the level observed for VLDL isolated from subjects with NL. There was no difference in the impact on VLDL-TG lipolysis between the HDL-2 and HDL-3 subpopulations, but the type of HDL subpopulation affected the percentages of surface lipids and apolipoproteins released from the VLDL. In the presence of HDL-3, the efficiency of release of the surface components was higher than in the presence of HDL-2, especially for free cholesterol (26% vs. 18%, $p<0.05$) and apolipoprotein E (43% vs. 18%, $p<0.001$). Moreover, the release of VLDL surface components in the presence of the total HDL fraction (HDL_T) depended on the HDL-2/HDL-3 cholesterol ratio and was significantly higher for samples with a low HDL-2/HDL-3 cholesterol ratio ($p<0.05$). The impact of the presence of HDL and its subpopulations on the efficiency of VLDL catabolism observed in the quantitative studies was confirmed in studies of the electrophoretic mobility of the VLDL remnants.

The effectiveness of VLDL lipolysis in subjects with an abnormal lipid profile (HC and HL) is reduced, which in subjects with hypercholesterolemia may be a risk factor for the HTG development and thus an additional factor in atherosclerosis development. HDL play an important role in the proper course of LPL-mediated VLDL catabolism, increasing the efficiency of the process and may play an important role in slowing down or preventing the development of HTG. Both HDL subpopulations – although HDL-3 to a greater extent – increase the release of lipid-protein surface material from VLDL during LPL-mediated catabolism. HDL dysfunction associated with changes in the amount/composition of these particles may reduce the effectiveness of VLDL catabolism, increasing the atherogenicity of the resulting remnants and leading to an increased risk of HTG and atherosclerosis development.