

Received: 2013.11.05
Accepted: 2014.10.03
Published: 2015.01.05

HDL zawierające apolipoproteinę E a rozwój miażdżycy*

ApoE-containing HDL and the development of atherosclerosis

Agnieszka Ćwiklińska^{1*}, Adrian Strzelecki², Barbara Kortas-Stempak¹,
Zbigniew Zdrojewski², Małgorzata Wróblewska¹

¹Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Współczesna wiedza na temat roli lipoprotein o dużej gęstości (HDL) wskazuje, że ich przeciwmiażdżycowa funkcja jest związana głównie z efektywnością działania (w tym przede wszystkim z udziałem w zwrotnym transporcie cholesterolu z komórek tkanek obwodowych do wątroby), a nie z samym stężeniem tej frakcji lipoprotein.

HDL są bardzo heterogenną grupą cząstek różniących się budową, składem lipidowym i białkowym oraz drogami przemian metabolicznych, co wpływa na aktywność biologiczną i efektywność działania przeciwmiażdżycowego poszczególnych subpopulacji HDL.

Główną rolę w przemianach metabolicznych HDL odgrywają apolipoproteiny, dlatego ich obecność jest jednym z głównych kryteriów klasyfikacji lipoprotein. Zgodnie z tym kryterium wyróżnia się subpopulację HDL zawierających apolipoproteinę E (apo E), określaną mianem HDL-apoE. Mimo że przeciwmiażdżycowa rola apo E została opisana w wielu pracach naukowych, to celem intensywnych badań pozostaje ciągle poznanie mechanizmów powstawania, przemian i roli HDL zawierających tę apolipoproteinę. Wyniki prac epidemiologicznych nie są bowiem jednoznaczne – w części z nich wykazywano, że duże stężenie HDL-apoE było związane z mniejszym ryzykiem rozwoju choroby wieńcowej (CHD). W innych pracach stwierdzano natomiast, że duże stężenie HDL-apoE było niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego i korelowało dodatnio z innymi czynnikami ryzyka rozwoju CHD.

Słowa kluczowe: lipoproteiny • HDL • apo E • miażdżycy • HDL-apoE

Summary

The current state of knowledge about the role of high density lipoproteins (HDL) indicates that their anti-atherogenic function is mainly related to the effectiveness of their actions (mostly to the participation in reverse cholesterol transport from tissues to liver) rather than the concentration of HDL itself.

HDLs are highly heterogeneous in their structure, lipid and protein composition and metabolic pathways and individual HDL subpopulations differ in their biological activity and effectiveness of anti-atherogenic actions.

Apolipoproteins play a key role in HDL metabolism, therefore their presence in lipoproteins is one of the main criterion for HDL classification. According to this criterion HDLs containing

*Praca została sfinansowana ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) przyznanych na podstawie decyzji nr MNiSW-DS-6002-4693-23/WA/12 z dnia 12 lipca 2012 r. na lata 2012-2017.

Key words:	apolipoprotein E, called HDL-apoE, are distinguished. Although the anti-atherogenic role of apo E has been demonstrated in many scientific reports, understanding of the mechanisms of formation, transformation and the role of HDL-apoE is still the aim of intense research. The results of epidemiological studies are inconclusive; some of them have demonstrated that high HDL-apoE concentration has been associated with lower risk of developing coronary heart disease (CHD), while other studies have shown that high levels of HDL-apoE has been an independent risk factor for cardiovascular events and positively correlated with other risk factors for CHD.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1134724
Word count:	2868
Tables:	2
Figures:	2
References:	59

Adres autorki: dr n. farm. Agnieszka Ćwiklińska, Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk; e-mail: acwik@gumed.edu.pl

Wykaz skrótów: **ABCA1** – białko błonowe mające kasetę wiążącą ATP typu A1, **ABCG1** – białko błonowe mające kasetę wiążącą ATP typu G1, **apo** – apolipoproteina, **CETP** – białko transportujące estry cholesterolu, **CH** – cholesterol, **CH-HDL** – cholesterol frakcji HDL, **CHD** – choroba wieńcowa (coronary heart disease), **CHM** – chylomikrony, **FL** – fosfolipidy, **HDL** – lipoproteiny o dużej gęstości, **HDL-apoE** – lipoproteiny HDL zawierające apoE, **HL** – lipaza wątrobowa, **HLP** – hiperlipoproteinemia, **HSPG** – proteoglikany zawierające łańcuchy siarczanu heparanu, **IDL** – lipoproteiny o pośredniej gęstości, **LCAT** – acylotransferaza lecytyna:cholesterol, **LDL** – lipoproteiny o małej gęstości, **LDLR** – receptor LDL, **Lp** – lipoproteina, **LpE** – lipoproteiny zawierające apo E jako jedyny składnik białkowy, **LRP** – białko pokrewne receptorowi LDL, **RCT** – zwrótny transport cholesterolu (reverse cholesterol transport), **sdLDL** – małe gęste LDL, **TAG** – triacyloglicerole, **VLDL** – lipoproteiny o bardzo małej gęstości.

LIPOPROTEINY HDL A ROZWÓJ MIAŻDŻYCY

Miażdżycza jest przewlekłą chorobą metaboliczną naczyń krwionośnych o złożonej patogenezie. Proces miażdżycowy prowadzi do zmniejszenia, a ostatecznie do zamknięcia światła naczyń, konsekwencją czego może być choroba niedokrwienna serca, zawał mięśnia sercowego lub udar niedokrwienny mózgu. Uznaje się, że miażdżycza i jej powikłania są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie [9].

Znaczącą rolę w zapobieganiu rozwojowi miażdżycy odgrywają lipoproteiny o dużej gęstości (HDL) [37]. Zalicza się do nich lipoproteiny o gęstości powyżej 1,063 g/ml, zawierające apolipoproteinę AI (apo AI) jako składnik strukturalny i wykazujące ruchliwość elektroforetyczną alfa (α) w żelu agarozowym. HDL są jednak bardzo heterogenną grupą cząstek, które ilościowo i jakościowo różnią się zawartością lipidów i apolipoprotein. Powoduje to, że uwzględniając różne kryteria rozdziału (gęstość, ruchliwość elektroforetyczna, wielkość, skład białkowy), można wyróżnić kilkanaście subpopulacji HDL (tabela 1). Tak duża heterogenność cząstek spowodowała, że obecnie HDL definiuje się jako populację lipoprotein mających podobną gęstość ($d > 1,063$ g/ml), mogących zawierać różne apolipoproteiny (nie tylko apo AI jako

składnik strukturalny) oraz lipidy, charakteryzować się różną ruchliwością elektroforetyczną i występować w osoczu w bardzo szerokim zakresie stężeń [40]. Co więcej, badania naukowe wskazują, że to stężenie określonych subpopulacji HDL jest ważniejszym czynnikiem decydującym o przeciwmiażdżycowym oddziaływaniu HDL niż całkowita ilość frakcji, oceniana najczęściej przez stężenie cholesterolu (CH-HDL). Ważny udział mniejszych pod względem ilościowym subpopulacji HDL w oddziaływaniu przeciwmiażdżycowym może potwierdzać brak rozwoju miażdżycy u części pacjentów z niskimi stężeniami CH-HDL [56] i rozwój miażdżycy i jej powikłań u części pacjentów z wysokimi stężeniami CH-HDL [1].

Główną rolę w przemianach metabolicznych lipoprotein odgrywają apolipoproteiny [30]. Najważniejszą apolipoproteiną HDL jest apo AI, ale oprócz niej w HDL występują również inne białka, np. apo AII, apo AIV, apo AV, apo CII, apo CIII, apo CIV, apo E [8]. Obecność tych apolipoprotein, ich zdolność do regulacji aktywności enzymów biorących udział w przemianach lipoprotein oraz zdolność do oddziaływania z receptorami komórkowymi z namiennie wpływa na funkcje, drogi przemian metabolicznych i przeciwmiażdżycowe oddziaływanie subpopulacji HDL [21,50].

Tabela 1. Przykłady subpopulacji HDL [13,23,41,42,44,50]

Kryterium rozdziału	Subpopulacje
Gęstość (g/ml)	HDL ₂ (d = 1,063-1,125); HDL ₃ (d = 1,125-1,21); VHDL (d > 1,21)
Skład białkowy	np. HDL zawierające apo AI (LpAI); HDL zawierające apo AII (LpAII); HDL zawierające apo AIV (LpAIV); HDL zawierające apo E (LpE); HDL zawierające apo AI i apo AII (LpAI:AII); HDL zawierające apo AI i apo E (LpAI:E); HDL zawierające apo AII i apo E (LpAII:E); HDL zawierające apo AI, apo AII i apo E (LpAI:AII:E);
Ruchliwość elektroforetyczna	HDL o ruchliwości γ (sferyczne γ -LpE); HDL o ruchliwości pre β (ubogolipidowe apo AI, dyskoidalne HDL); HDL o ruchliwości α (np. sferyczne LpAI, LpAI:AII, LpAIV);
Wielkość cząstek (średnia wielkość)	HDL _{2a} (9,2 nm), HDL _{2b} (10,6 nm), HDL _{3a} (8,4 nm), HDL _{3b} (8,0 nm); HDL _{3c} (7,6 nm);

Tabela 2. Sposób usuwania CH z komórek [40]

Sposób usuwania CH z komórek	Preferowane akceptory	Charakterystyka
Dyfuzja CH z błon komórkowych	dojrzałe cząstki HDL	transport pasywny, dwukierunkowy
Oddziaływanie z białkiem ABCA1	prekursorowe, ubogolipidowe HDL zawierające apo AI lub apo E	transport aktywny, jednokierunkowy
Oddziaływanie z białkiem ABCG1	dojrzałe, sferyczne cząstki HDL; preferencyjnie cząstki zawierające apo E	transport aktywny, jednokierunkowy
Oddziaływanie z receptorem SR-B1	dojrzałe, sferyczne cząstki HDL; duże cząstki HDL są lepszymi akceptorami od mniejszych	transport pasywny, dwukierunkowy

Podstawowy mechanizm przeciwmiażdżycowego oddziaływania HDL to udział w zwrotnym transporcie cholesterolu (CH) z komórek tkanek obwodowych do wątroby (reverse cholesterol transport – RCT) – procesie, który ma ogromne znaczenie w utrzymaniu homeostazy CH w organizmie [47]. RCT obejmuje odbieranie przez HDL cholesterolu wolnego z komórek, jego estryfikację przez acylotransferazę lecytyna:cholesterol (LCAT) oraz przekazanie estrów cholesterolu z HDL do wątroby w celu jego wydalania z organizmu wraz z żółcią [37]. Różną skuteczność oddziaływania poszczególnych subpopulacji HDL obserwuje się na wszystkich etapach RCT, np. w pierwszym, podstawowym etapie RCT, jakim jest przekazywanie cholesterolu wolnego z komórek do HDL, proces ten może odbywać się w wyniku nieswoistego procesu dyfuzji CH z błon komórkowych do akceptorów lub na skutek procesów, w których udział biorą białka i receptory komórkowe (tabela 2).

Jedną z subpopulacji HDL, której rola i przemiany metaboliczne nie są nadal dokładnie poznane, a której przypisuje się duży udział w przeciwmiażdżycowym oddziaływaniu HDL są lipoproteiny zawierające apolipoproteinę E (apo E), określane mianem HDL-apoE [40].

APOLIPOPROTEINA E

Budowa apo E

Apolipoproteina E to bogata w argininę glikoproteina, wytwarzana w różnych narządach: wątrobie, mózgu, śledzionie, płucach, jajnikach, nerkach, mięśniach i nadnerczach. Ekspresję apo E stwierdzono także w makrofagach i tkance tłuszczowej. Głównym źródłem osoczowej puli apo E jest wątroba. Szacuje się, że w tym narządzie powstaje 60-80% apolipoproteiny obecnej w osoczu [12].

Podobnie jak białka z rodziny apo A i apo C, apo E zalicza się do grupy apolipoprotein powierzchniowych, zwanych też wymiennalnymi. Są to białka amfipatyczne, które mogą występować w osoczu w postaci niezwiązanej z lipidami. Znaczna ich część jest wydzielana z komórek w postaci wolnych łańcuchów białkowych, które następnie wiążą się z lipidami tworząc nowe cząstki lipoproteinowe lub też przyłączają się do krążących lipoprotein. Mogą one również oddysocjowywać z powierzchni lipoprotein i przemieszczać się w osoczu między lipoproteinami różnych klas [45].

Apo E to białko o masie cząsteczkowej 34,2 kDa, zbudowane z 299 aminokwasów. W swej strukturze zawiera 22-aminokwasowe, powtarzające się fragmenty rozdzielone proliną, które tworzą amfipatyczne α -helisy [28]. Białko tworzą dwie domeny (N-końcowa i C-końcowa), połączone regionem zawiasowym wrażliwym na proteazy. W stanie niezwiązanym z lipidami domena N-końcowa apo E ma postać upakowanej struktury w kształcie pęczka, złożonego z czterech amfipatycznych α -helis. Odpowiada za wiązanie z receptorem LDL (LDLR), białkiem pokrewnym receptorowi LDL (LRP), proteoglikanami zawierającymi łańcuchy siarczanu heparanu (HSPG) oraz za wiązanie z receptorem SR-B1 [15]. Struktura hydrofobowej domeny C-końcowej nie jest jeszcze dokładnie scharakteryzowana. Wiadomo, że w domenie tej znajduje się główne miejsce wiązania lipidów [15]. Vedhachalam wykazał, że tutaj znajduje się również miejsce oddziaływania z białkiem błonowym mającym kasetę wiążącą ATP typu A1 (ABCA1) [49]. Domena C-końcowa odpowiada także za samoasocjacje apo E w przypadku braku obecności lipidów. Skutkiem tego w środowisku wolnym od lipidów, apo E występuje w postaci mieszaniny monomerów, tetramerów, oktamerów i niewielkiej liczby wyższych oligomerów [28]. Wiązanie cząsteczki apo E z lipidami prowadzi do zmiany konformacji białka. Zmiany te nie są jeszcze dokładnie poznane, ponieważ apo E wykazuje dużą elastyczność i w zależności od składu lipidowego cząstki oraz obecności innych apolipoprotein przyjmuje różne konformacje. Konformacja białka decyduje również o powinowactwie apo E do receptorów [15]. Wolna apo E wykazuje największe powinowactwo do ABCA1 [22], natomiast oddziaływanie z LDLR możliwe jest dopiero po związaniu się lipidów z C-końcową domeną apo E i rozwinięciu pęczka helis tworzących domenę N-końcową [28].

Polimorfizm apo E

Apo E jest białkiem polimorficznym, występującym w trzech głównych izoformach: apo E2, apo E3 i apo E4, różniących się rodzajem aminokwasów w pozycji 112 i 158 łańcucha polipeptydowego. Najczęściej w populacji występuje izoforma apo E3, która w pozycji 112 łańcucha ma cysteinę, a w pozycji 158 łańcucha – argininę. Najrzadziej z wymienionych występująca izoforma to apo E2, w której w obu wskazanych pozycjach stwierdza się obecność cysteiny. W apo E4 w obu wymienio-

nych pozycjach łańcucha polipeptydowego występuje arginina [10].

Polimorfizm genu apo E wpływa na własności strukturalne i funkcjonalne kodowanego białka. Największą stabilność termiczną i chemiczną wykazuje apo E2, najmniejszą – apo E4 [12]. Izoforma apo E2 wykazuje ponad 50-krotnie mniejsze powinowactwo do LDLR w porównaniu do apo E3 i apo E4 i w przypadku obecności tej izoformy obserwuje się zmniejszony wychwyty remnantów lipoprotein z osocza [15,53]. Apo E2 i apo E3 preferencyjnie wiążą się z mniejszymi, bogatszymi w fosfolipidy (FL) cząstkami HDL, natomiast apo E4 wykazuje większe powinowactwo do dużych, bogatych w triacyloglicerole (TAG) lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL). Wykazano, że obecność apo E4 wiąże się z podwyższonym stężeniem apo B i CH w krążeniu, a obecność tej izoformy może predysponować do rozwoju miażdżycy [32].

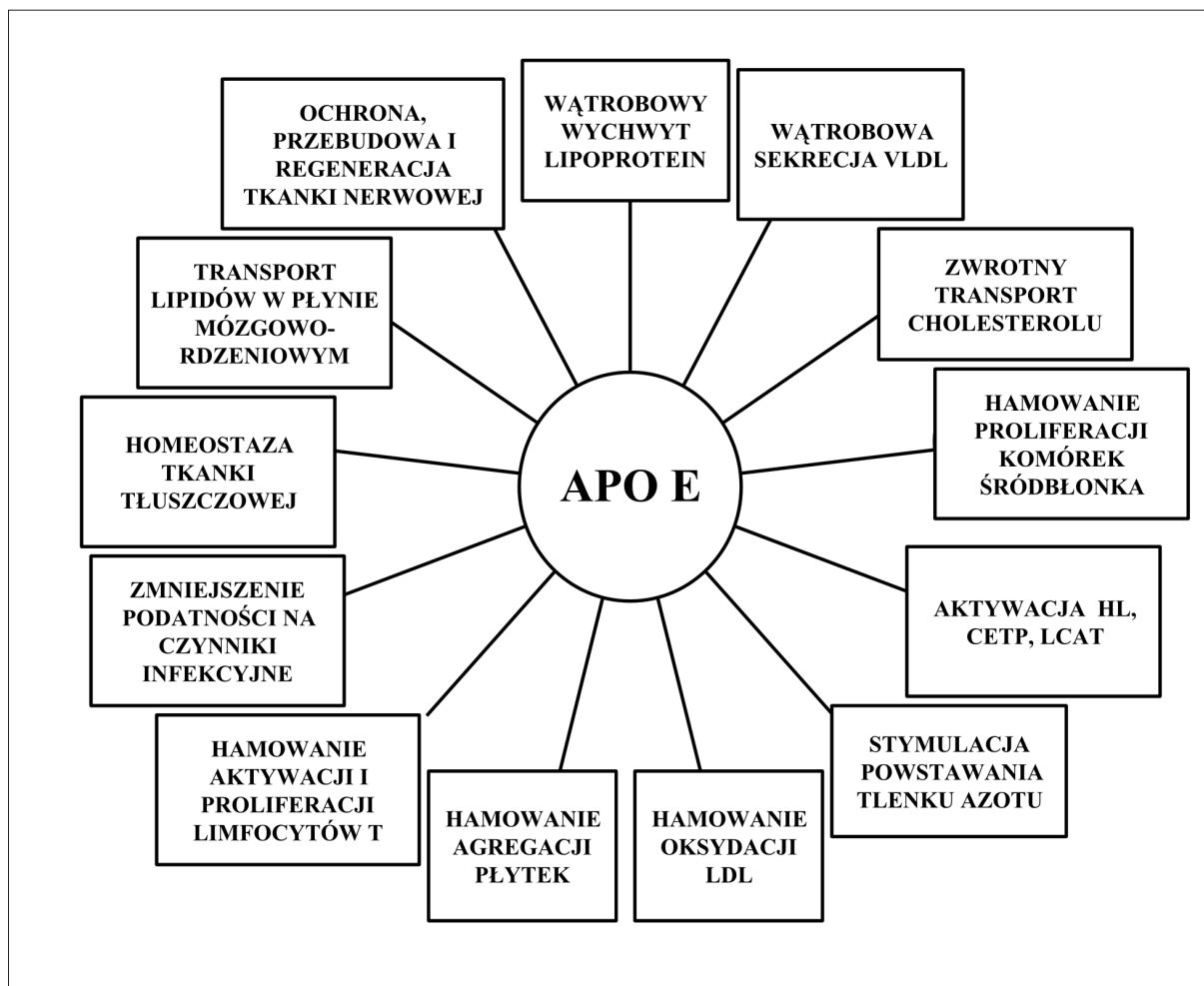
Funkcje apolipoproteiny E

Apo E zalicza się do białek o wielokierunkowym działaniu. Jej udział wykazano w różnych procesach biologicznych, z których wiele odgrywa ważną rolę w zapobieganiu rozwojowi miażdżycy (ryc. 1) [31,32].

Niepodważalne dowody na ważną rolę apo E w procesach przeciwmiażdżycowych uzyskano w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem myszy apoE-knockout, które nie wytwarzają apo E [36]. U tych zwierząt rozwój zaawansowanej postaci miażdżycy następuje spontanicznie, a zastosowanie diety bogatej w CH przyspiesza rozwój choroby, prowadząc do przedwczesnej śmierci myszy [7,36]. Zahamowanie rozwoju miażdżycy u myszy apoE-knockout uzyskuje się wprowadzając gen dla apo E, np. w wyniku transplantacji szpiku kostnego lub za pomocą wektorów wirusowych [4,14]. Raffai wykazał, że regresja zmian miażdżycowych jest w takich przypadkach niezależna od obniżenia stężenia CH [39].

Udział apo E w zapobieganiu rozwojowi miażdżycy wynika przede wszystkim z bardzo ważnej roli, jaką odgrywa w metabolizmie lipoprotein i utrzymaniu homeostazy CH w organizmie. Białko to jest integralnym składnikiem wszystkich klas lipoprotein z wyjątkiem małych LDL i jako apolipoproteina wymiennalna przemieszcza się w osoczu między cząstkami różnych klas [12].

Jako składnik chylomikronów (CHM) i VLDL wpływa na anaboliczne i kataboliczne drogi przemian lipoprotein bogatych w TAG. Stymuluje wątrobowe wytwarzanie TAG i jako składnik VLDL jest wydzielana z wątroby. CHM wytwarzane w ścianie jelita pozyskują apo E w osoczu od innych klas lipoprotein. Ponieważ apo E jest ligandem umożliwiającym wiązanie się lipoprotein do receptorów, obecność tego białka umożliwia wątrobowy wychwyty i usuwanie z osocza cząstek VLDL oraz remnantów VLDL i CHM. Odbywa się to dzięki oddziaływaniu apo E z receptorami komórkowymi LDLR i LRP oraz wiązaniu się z HSPG lub kompleksem HSPG/LRP na komórkach wątroby [32].



Ryc. 1. Funkcje apolipoproteiny E

Apo E jest również składnikiem HDL i uczestniczy we wszystkich etapach zwrotnego transportu cholesterolu do wątroby (omówienie poniżej).

Apo E reguluje także aktywność osoczowych enzymów i białek biorących udział w metabolizmie lipoprotein: lipazy wątrobowej (HL), acylotransferazy lecytyna:cholesterol (LCAT) i białka transportującego estry cholesterolu (CETP) [12].

Bardzo istotne oddziaływanie przeciwmiażdżycowe przypisuje się apo E wytwarzanej przez makrofagi. Udowodniono, że komórki te przy nadmiernym obciążeniu CH wykazywały zwiększoną ekspresję apo E. Niedobór białka w makrofagach obniżał poziom wypływu CH z komórek i prowadził do powstawania zmian miażdżycowych, a zmiany te obserwowano mimo ekspresji białka ABCA1 i obecności zewnątrzkomórkowych akceptorów CH jak apo AI czy liposomy fosfatydylocholinowe [19,27,57,58].

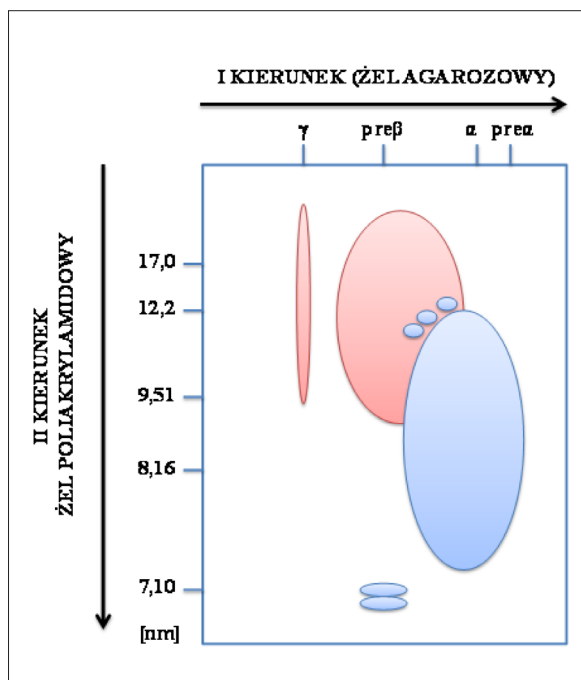
Oprócz udziału w utrzymaniu homeostazy CH w organizmie apo E wykazuje również działania plejotropowe, mające wpływ na hamowanie rozwoju miażdżycy: stymuluje powstawanie tlenku azotu, hamuje oksydację lipidów, ha-

muje aktywację i proliferację limfocytów T oraz migrację i proliferację komórek śródbłonna naczyń oraz wpływa hamująco na agregację płytek krwi [12].

APO E JAKO SKŁADNIK LIPOPROTEIN HDL (HDL-apoE)

Subpopulacja cząstek HDL zawierających apo E (HDL-apoE) różni się budową od innych subpopulacji HDL. HDL-apoE są większe i wykazują mniejszą ruchliwość elektroforetyczną w stosunku do cząstek HDL niezawierających apo E (ryc. 2) [44]. W osoczu wyróżnia się również subpopulację HDL, w której apo E jest jedynym składnikiem białkowym [23,25]. Lipoproteiny te, określane jako LpE, stanowią niejednorodną grupę cząstek o gęstości powyżej 1,21 g/ml. Są one większe i mają mniejszą ruchliwość elektroforetyczną, a ich metabolizm jest szybszy w stosunku do lipoprotein HDL zawierających oprócz apo E także inne apolipoproteiny (ryc. 2) [13,24]. Podstawą podziału LpE na subpopulacje: γ -LpE, pre β -LpE i α -LpE stała się różna ruchliwość tych lipoprotein w żelu agarozowym [23]. W badaniach na liniach komórkowych wykazano, że LpE mogą być wydzielane przez ludzkie komórki *hepatoma* i ludzkie makrofagi. Niewiele wiadomo natomiast o ich

przemianach i funkcjach metabolicznych; ich poznanie wymaga dalszych badań [23].



Ryc. 2. Dystrybucja apo AI (kolor niebieski) i apo E (kolor różowy) w lipoproteinach HDL rozdzielonych metodą elektroforezy dwukierunkowej; I kierunek (żel agarozowy) - rozdział ze względu na ruchliwość elektroforetyczną; II kierunek (żel poliakrylamidowy, warunki niedenaturujące) – rozdział ze względu na wielkość lipoprotein

HDL zawierające apo E pełnią różne funkcje metaboliczne. W okresie poposiłkowym są one źródłem apo E dla lipoprotein bogatych w TAG, umożliwiając wątrobowy wychwyty tych cząstek z krwiobiegu [23,24]. Odgrywają również bardzo ważną rolę w RCT, a o ich ważnej roli świadczą wyniki doświadczeń prowadzonych na myszach apoE-knockout, u których cząstki HDL (niezawierające apo E) mają zredukowaną zdolność akceptowania CH, zmniejszoną zawartość apo AI i zmniejszoną aktywność przeciwutleniającą. Aktywność LCAT u tych zwierząt jest również zmniejszona, a HDL zawierają tylko 45% CH, w porównaniu do HDL zwierząt kontrolnych [10]. Hayek zaobserwował, że HDL uzyskane od myszy apoE-knockout miały o 40% mniejszą zdolność do promowania usuwania CH z makrofagów, w porównaniu z HDL uzyskanymi od myszy kontrolnych, a dodanie apo E do HDL pozbawionych tej apolipoproteiny skutkowało zwiększeniem zdolności akceptowania CH komórkowego do wartości obserwowanych dla HDL kontrolnych [16].

HDL-apoE biorą udział we wszystkich etapach RCT. Wolna lub ubogolipidowa apo E, w wyniku oddziaływania z białkiem ABCA1, bierze udział w wychwycie CH z komórek [22,26]. Bogate w apo E duże, sferyczne cząstki HDL₂ akceptują CH z komórek przez wiązanie się z białkiem ABC typu G1 (ABCG1) [33]. Do wychwyty CH z komórek zdolne

są również obecne w osoczu sferyczne cząstki lipoproteinowe o ruchliwości gamma (γ -LpE), dla których mechanizm odbierania CH komórkowego nie został jeszcze poznany [18]. Warto podkreślić, że γ -LpE jest bardziej efektywnym akceptorem CH niż pre β -LpAI. Po inkubacji osocza ludzkiego z fibroblastami obciążonymi znakowanym CH, wyższy stopień radioaktywności stwierdzano we frakcji γ -LpE [17,18,50,51,52]. Obecność γ -LpE stwierdzono w różnych rodzajach genetycznie uwarunkowanych niedoborów HDL: rodzinnym niedoborze apo AI, rodzinnym niedoborze LCAT, chorobie rybich oczu i chorobie tangierskiej. Von Eckardstein wykazał, że w tych zaburzeniach transport CH z komórek do wątroby był utrzymany, choć w stosunku do osób zdrowych różnił się ilościowo i jakościowo [50]. Uważa się, że tego typu subpopulacje HDL jak LpE mogą stanowić skuteczną „ochronę przeciwmiażdżycową” w przypadku deficytu akceptorów CH, jakimi są HDL zawierające apo AI [56].

Apo E, aktywując LCAT, przyspiesza również proces estryfikacji CH w HDL [59]. Duża elastyczność apo E w zmianie konformacji struktury znacznie zwiększa możliwość akumulacji estrów w cząstkach HDL zawierających tę apolipoproteinę [29]. Dzięki interakcji z wątrobowymi receptorami SR-B1 i LDLR, apo E jest też zaangażowana bezpośrednio w ostatni etap RCT, związany z przekazywaniem estrów cholesterolu z HDL do wątroby [40].

STĘŻENIE APO E ORAZ JEJ DYSTRYBUCJA MIĘDZY LIPOPROTEINY OSOCCA A RYZYKO ROZWOJU MIAŻDŻYCY I JEJ POWIKŁAŃ

Przeciwmiażdżycowe oddziaływanie apo E udowodniono w wielu pracach, szczególnie w doświadczeniach prowadzonych w warunkach *in vitro* i w badaniach na modelu zwierzęcym. Okazało się jednak, że działanie to może być niwelowane przez izoformę apo E (opis powyżej) oraz jej całkowite stężenie w osoczu i dystrybucję między różne klasy lipoprotein [32].

Barbagallo i Genest wykazali, że u pacjentów z hiperlipidemią, u których występowało zwiększone ryzyko zachorowania na chorobę wieńcową (CHD), obserwowano podwyższone stężenie apo E w osoczu, szczególnie na skutek wzrostu jej stężenia w lipoproteinach zawierających apo B [3,11]. Atorwastatyna i fenofibrat obniżyły stężenia apo E w VLDL, co uznano za jeden z czynników normujących gospodarkę lipidową [6,38]. Podobnie Mooijaart, badając uczestników Leiden 85-plus Study wykazał, że u starszych osób zwiększone osocze stężenie apo E poprzedza wzrost CRP w surowicy i jest ściśle związane ze śmiertelnością z powodów sercowo-naczyniowych, niezależnie od genotypu apo E i osoczowego stężenia lipidów [35]. Również van Vliet wykazał, że u osób w wieku podeszłym (z wyjątkiem nosicieli wariantu genu ϵ 2) wysokie wartości apo E w osoczu są związane ze zwiększonym ryzykiem udaru niedokrwiennego mózgu, niezależnie od genotypu, stężeń poszczególnych frakcji lipidów w osoczu, czy innych klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Nie badał on jednak dystrybucji apo E w poszczególnych klasach lipoprotein, choć przypuszcza, że zwiększone stężenie apo E w osoczu może odzwierciedlać obecność zwiększonych stężeń pro-

aterogennych lipoprotein: małych gęstych LDL (sdLDL) oraz remnantów VLDL i chylomikronów [48]. Söderlund i wsp., na podstawie badania Finnish Health 2000 Health Examination Survey u osób z zespołem metabolicznym stwierdzili wyższe stężenie apo E w surowicy, a ilość apo E wykazywała dodatnią korelację z czynnikami rozwoju zespołu metabolicznego (obwód talii, osoczowe stężenie TAG i glukozy). Stwierdzili również, że osoby z małym stężeniem CH-HDL miały znacznie wyższe całkowite stężenie apo E w osoczu niż osoby z dużym CH-HDL [46].

Mendivil natomiast, badając zależność między stężeniem apo E a ryzykiem rozwoju CHD w dwóch niezależnych kohortach: Nurses' Health Study (kobiety) i Health Professionals Follow-up Study (mężczyźni), uzyskał wyniki odmienne. Stwierdził, że zwiększone stężenie apo E w lipoproteinach zawierających apo B było związane z niższym ryzykiem rozwoju CHD [34]. Kim i wsp., badając pacjentów z ostrym niedokrwieniem mózgu wykazali, że osoczowe stężenie apo E było istotnie niższe u osób ze zwężeniem tętnic wewnątrzczaszkowych w porównaniu z pacjentami bez stenoz [20].

Jednoznacznych wyników nie dają również prace dotyczące powiązania między czynnikami ryzyka i rozwojem miażdżycy a stężeniem HDL-apoE. Cohn stwierdził, że u osób z normolipemią ponad 60% osoczowej apo E jest związane z HDL, głównie z dużymi cząstkami HDL₂, podczas gdy w przypadku zaburzeń gospodarki lipidowej jest to tylko 8% - 40% [5]. Wilson obserwował, że niskie stężenie bogatych w apo E, dużych cząstek HDL₂ było związane z wysokim ryzykiem rozwoju CHD [54]. Söderlund również wykazał, że u osób z niskim stężeniem CH-HDL stężenie apo E w dużych cząstkach HDL było obniżone, w porównaniu z osobami z wyższymi wartościami CH-HDL [46]. Zwiększone stężenie HDL₂ obserwowano natomiast u osób z niedoborem białka CETP [55]. Przypuszcza się, że cząstki HDL u tych pacjentów, ze względu na podwyższoną zawartość LCAT i apo E, wykazują zwiększoną zdolność do usuwania CH z makrofagów w sposób zależny od ABCG1 i mogą odgrywać istotną rolę przeciwmiażdżycową [33].

Odmienne zależności obserwowano natomiast w badaniu CARE, w którym stwierdzono, że wysokie stężenie HDL-apoE jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia incydentu

sercowo-naczyniowego oraz koreluje z niskimi stężeniami CH-HDL i wysokimi stężeniami TAG, VLDL-apoB oraz (VLDL+LDL)-apo CIII [43]. Podobnie u osób otyłych, chorujących na cukrzycę, Bach-Ngohou stwierdził wyższe stężenie apo E w HDL w porównaniu do grupy kontrolnej [2], ale w tych badaniach nie oceniano stężenia apo E w HDL₂.

Tak rozbieżne wyniki badań utrudniają jednoznaczne ustalenie związku między stężeniem apo E i jej dystrybucją w osoczu między HDL i innymi klasami lipoprotein a rozwojem miażdżycy i jej powikłań. Część badaczy uważa, że zmiany stężenia i dystrybucji apo E w osoczu nie są czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy *per se*, tylko odpowiedzią obronną organizmu na sprzyjającą rozwojowi miażdżycy insulinooporność i związane z nią zaburzenia metabolizmu lipidów i lipoprotein [2]. Teza ta jednak nie została jeszcze potwierdzona, a ustalenie tego związku wymaga dalszych, intensywnych badań.

PODSUMOWANIE

HDL to lipoproteiny heterogenne pod względem budowy, składu i aktywności biologicznej. Uważa się, że poszczególne subpopulacje HDL pełnią odmienne funkcje metaboliczne i mają różny potencjał w działaniu przeciwmiażdżycowym. Z tego powodu ocena subpopulacji HDL znajduje się w centrum uwagi wielu zespołów badawczych, ponieważ ustalenie ich roli w rozwoju miażdżycy stanowi ogromny potencjał w wyznaczaniu nowych biomarkerów rozwoju miażdżycy oraz w szukaniu punktów uchwytu nowych leków stosowanych w terapii przeciwmiażdżycowej.

Apo E odgrywa dużą rolę w metabolizmie HDL, a udział HDL-apoE we wszystkich etapach RCT wskazuje na ich ważną rolę w przeciwmiażdżycowym oddziaływaniu HDL. Mimo to rola apo E w metabolizmie cząstek HDL nie jest nadal dokładnie poznana, a wyniki badań epidemiologicznych dotyczące powiązania między apo E i HDL-apoE a czynnikami ryzyka i rozwojem miażdżycy nie są jednoznaczne. Ważne jest więc prowadzenie zarówno prac doświadczalnych, jak i klinicznych, które pozwolą jednoznacznie wyjaśnić rolę, drogi przemian oraz powiązanie między stężeniem apo E i HDL-apoE a rozwojem choroby, która nadal jest jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie.

PIŚMIENNICTWO

[1] Angeloni E., Paneni F., Landmesser U., Benedetto U., Melina G., Lüscher T.F., Volpe M., Sinatra R., Cosentino F.: Lack of protective role of HDL-C in patients with coronary artery disease undergoing elective coronary artery bypass grafting. *Eur. Heart J.*, 2013; 34: 3557-3562

[2] Bach-Ngohou K., Ouguerram K., Nazih H., Maugeire P., Ripolles-Piquer B., Zair Y., Frenais R., Krempf M., Bard J.M.: Apolipoprotein E kinetics: influence of insulin resistance and type 2 diabetes. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26: 1451-1458

[3] Barbagallo C.M., Rizzo M., Noto D., Frasheri A., Pernice V., Rubino A., Pieri D., Pinto V., Cefalu A.B., Giordano C., Notarbartolo A., Averna M.R.: Accumulation of apoE-enriched triglyceride-rich li-

poproteins in patients with coronary artery disease. *Metabolism*, 2006; 55: 662-668

[4] Boisvert W.A., Spangenberg J., Curtiss L.K.: Treatment of severe hypercholesterolemia in apolipoprotein E-deficient mice by bone marrow transplantation. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 1118-1124

[5] Cohn J.S., Tremblay M., Amiot M., Bouthillier D., Roy M., Genest J.Jr., Davignon J.: Plasma concentration of apolipoprotein E in intermediate-sized remnant-like lipoproteins in normolipidemic and hyperlipidemic subjects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1996; 16: 149-159

[6] Cohn J.S., Tremblay M., Batal R., Jacques H., Veilleux L., Rodriguez C., Barrett P.H., Dubreuil D., Roy M., Bernier L., Mamer O., Davignon

- J.: Effect of atorvastatin on plasma apoE metabolism in patients with combined hyperlipidemia. *J. Lipid Res.*, 2002; 43: 1464-1471
- [7] Davignon J., Cohn J.S., Mabile L., Bernier L.: Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. *Clin. Chim. Acta*, 1999; 286: 115-143
- [8] Eren E., Yilmaz N., Aydin O.: High density lipoprotein and its dysfunction. *Open Biochem. J.*, 2012; 6: 78-93
- [9] Faxon D.P., Creager M.A., Smith S.C.Jr., Pasternak R.C., Olin J.W., Bettmann M.A., Criqui M.H., Milani R.V., Loscalzo J., Kaufman J.A., Jones D.W., Pearce W.H.: Atherosclerotic vascular disease conference: executive summary: atherosclerotic vascular disease conference proceeding for healthcare professionals from a special writing group of the American Heart Association. *Circulation*, 2004; 109: 2595-2604
- [10] Fielding J.C.: High-density lipoproteins: from basic biology to clinical aspects. John Wiley & Sons, Weinheim (Niemy) 2007
- [11] Genest J.Jr., Bard J.M., Fruchart J.C., Ordovas J.M., Wilson P.F., Schaefer E.J.: Plasma apolipoprotein A-I, A-II, B, E and C-III containing particles in men with premature coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 1991; 90: 149-157
- [12] Greenow K., Pearce N.J., Ramji D.P.: The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *J. Mol. Med.*, 2005; 83: 329-342
- [13] Hannuksela M.L., Brousseau M.E., Meyn S.M., Nazih H., Bader G., Shamburek R.D., Alaupovic P., Brewer H.B.Jr.: In vivo metabolism of apolipoprotein E within the HDL subpopulations LpE, LpE:A-I, LpE:A-II and LpE:A-I:A-II. *Atherosclerosis*, 2002; 165: 205-220
- [14] Harris J.D., Schepelmann S., Athanasopoulos T., Graham I.R., Stannard A.K., Mohri Z., Hill V., Hassall D.G., Owen J.S., Dickson G.: Inhibition of atherosclerosis in apolipoprotein-E-deficient mice following muscle transduction with adeno-associated virus vectors encoding human apolipoprotein-E. *Gene Ther.*, 2002; 9: 21-29
- [15] Hatters D.M., Peters-Libeu C.A., Weisgraber K.H.: Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends Biochem. Sci.*, 2006; 31: 445-454
- [16] Hayek T., Oiknine J., Brook J.G., Aviram M.: Role of HDL apolipoprotein E in cellular cholesterol efflux: studies in apo E knockout transgenic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994; 205: 1072-1078
- [17] Huang Y., von Eckardstein A., Wu S., Assmann G.: Effects of the apolipoprotein E polymorphism on uptake and transfer of cell-derived cholesterol in plasma. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 2693-2701
- [18] Huang Y., von Eckardstein A., Wu S., Maeda N., Assmann G.: A plasma lipoprotein containing only apolipoprotein E and with y mobility on electrophoresis releases cholesterol from cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 1834-1838
- [19] Ishiguro H., Yoshida H., Major A.S., Zhu T., Babaev V.R., Linton M.F., Fazio S.: Retrovirus-mediated expression of apolipoprotein A-I in the macrophage protects against atherosclerosis in vivo. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 36742-36748
- [20] Kim Y.J., Lee S.M., Cho H.J., Do H.J., Hong C.H., Shin M.J., Kim Y.S.: Plasma levels of apolipoprotein E and risk of intracranial artery stenosis in acute ischemic stroke patients. *Ann. Nutr. Metab.*, 2013; 62: 26-31
- [21] Krauss R.M.: Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2010; 21: 305-311
- [22] Krimbou L., Denis M., Haidar B., Carrier M., Marcil M., Genest J.Jr.: Molecular interactions between apoE and ABCA1: impact on apoE lipidation. *J. Lipid Res.*, 2004; 45: 839-848
- [23] Krimbou L., Marcil M., Chiba H., Genest J.Jr.: Structural and functional properties of human plasma high density-sized lipoprotein containing only apoE particles. *J. Lipid Res.*, 2003; 44: 884-892
- [24] Krimbou L., Tremblay M., Davignon J., Cohn J.S.: Characterization of human plasma apolipoprotein E-containing lipoproteins in the high density lipoprotein size range: focus on pre- β_1 -LpE, pre- β_2 -LpE, and α -LpE. *J. Lipid Res.*, 1997; 38: 35-48
- [25] Krimbou L., Tremblay M., Jacques H., Davignon J., Cohn J.S.: In vitro factors affecting the concentration of gamma-LpE (γ -LpE) in human plasma. *J. Lipid Res.*, 1998; 39: 861-872
- [26] Kypreos K.E., Zannis V.I.: Pathway of biogenesis of apolipoprotein E-containing HDL in vivo with the participation of ABCA1 and LCAT. *Biochem. J.*, 2007; 403: 359-367
- [27] Lin C.Y., Duan H., Mazzone T.: Apolipoprotein E-dependent cholesterol efflux from macrophages: kinetic study and divergent mechanisms for endogenous versus exogenous apolipoprotein E. *J. Lipid Res.*, 1999; 40: 1618-1627
- [28] Lund-Katz S., Phillips M.C.: High density lipoprotein structure-function and role in reverse cholesterol transport. *Subcell. Biochem.*, 2010; 51: 183-227
- [29] Mahley R.W., Huang Y., Weisgraber K.H.: Putting cholesterol in its place: apoE and reverse cholesterol transport. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1226-1229
- [30] Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C.Jr., Weisgraber K.H.: Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J. Lipid Res.*, 1984; 25: 1277-1294
- [31] Mahley R.W., Rall S.C.Jr.: Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2000; 1: 507-537
- [32] Mahley R.W., Weisgraber K.H., Huang Y.: Apolipoprotein E: structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. *J. Lipid Res.*, 2009; 50, Suppl.: S183-S188
- [33] Matsuura F., Wang N., Chen W., Jiang X.C., Tall A.R.: HDL from CETP-deficient subjects shows enhanced ability to promote cholesterol efflux from macrophages in an apoE- and ABCG1-dependent pathway. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1435-1442
- [34] Mendivil C.O., Rimm E.B., Furtado J., Sacks F.M.: Apolipoprotein E in VLDL and LDL with apolipoprotein C-III is associated with a lower risk of coronary heart disease. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2: e000130
- [35] Mooijaart S.P., Berbee J.F., van Heemst D., Havekes L.M., de Craen A.J., Slagboom P.E., Rensen P.C., Westendorp R.G.: ApoE plasma levels and risk of cardiovascular mortality in old age. *PLoS Med.*, 2006; 3: e176
- [36] Nakashima Y., Plump A.S., Raines E.W., Breslow J.L., Ross R.: ApoE-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree. *Arterioscler. Thromb.*, 1994; 14: 133-140
- [37] Nofer J.R.: Rola lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) w miażdżycy. W: *Kardiologia zapobiegawcza II*, red.: M. Naruszewicz. eMKA, Warszawa 2007, 86-121
- [38] Ooi E.M., Ng T.W., Watts G.F., Chan D.C., Barrett P.H.: Effect of fenofibrate and atorvastatin on VLDL apoE metabolism in men with the metabolic syndrome. *J. Lipid Res.*, 2012; 53: 2443-2449
- [39] Raffai R.L., Loeb S.M., Weisgraber K.H.: Apolipoprotein E promotes the regression of atherosclerosis independently of lowering plasma cholesterol levels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 436-441
- [40] Rosenson R.S., Brewer H.B., Davidson W.S., Fayad Z.A., Fuster V., Goldstein J., Hellerstein M., Jiang X.C., Phillips M.C., Rader D.J., Remaley A.T., Rothblat G.H., Tall A.R., Yvan-Charvet L.: Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation*, 2012; 125: 1905-1919
- [41] Rye K.A., Barter P.J.: Predictive value of different HDL particles for the protection against or risk of coronary heart disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1821: 473-480
- [42] Rye K.A., Bursill C.A., Lambert G., Tabet F., Barter P.J.: The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J. Lipid Res.*, 2009; 50, Suppl.: S195-S200

- [43] Sacks F.M., Alaupovic P., Moye L.A., Cole T.G., Sussex B., Stampfer M.J., Pfeffer M.A., Braunwald E.: VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation*, 2000; 102: 1886-1892
- [44] Schaefer E.J.: *High Density Lipoproteins, Dyslipidemia, and Coronary Heart Disease*. Springer New York, New York (USA) 2010
- [45] Segrest J.P., Jones M.K., De Loof H., Brouillette C.G., Venkatachalapathi Y.V., Anantharamaiah G.M.: The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function. *J. Lipid Res.*, 1992; 33: 141-166
- [46] Soderlund S., Watanabe H., Ehnholm C., Jauhiainen M., Taskinen M.R.: Increased apolipoprotein E level and reduced high-density lipoprotein mean particle size associate with low high-density lipoprotein cholesterol and features of metabolic syndrome. *Metabolism*, 2010; 59: 1502-1509
- [47] Tall A.R.: Cholesterol efflux pathways and other potential mechanisms involved in the athero-protective effect of high density lipoproteins. *J. Intern. Med.*, 2008; 263: 256-273
- [48] van Vliet P., Mooijaart S.P., de Craen A.J., Rensen P.C., van Heemst D., Westendorp R.G.: Plasma levels of apolipoprotein E and risk of stroke in old age. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 2007; 1100: 140-147
- [49] Vedhachalam C., Narayanaswami V., Neto N., Forte T.M., Phillips M.C., Lund-Katz S., Bielicki J.K.: The C-terminal lipid-binding domain of apolipoprotein E is a highly efficient mediator of ABCA1-dependent cholesterol efflux that promotes the assembly of high-density lipoproteins. *Biochemistry*, 2007; 46: 2583-2593
- [50] von Eckardstein A., Huang Y., Wu S., Funke H., Nosedá G., Assmann G.: Reverse cholesterol transport in plasma of patients with different forms of familial HDL deficiency. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 691-703
- [51] von Eckardstein A., Huang Y., Wu S., Sarmadi A.S., Schwarz S., Steinmetz A., Assmann G.: Lipoproteins containing apolipoprotein A-IV but not apolipoprotein A-I take up and esterify cell-derived cholesterol in plasma. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 1755-1763
- [52] von Eckardstein A., Jauhiainen M., Huang Y., Metso J., Langer C., Pussinen P., Wu S., Ehnholm C., Assmann G.: Phospholipid transfer protein mediated conversion of high density lipoproteins generates pre b₁-HDL. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996; 1301: 255-262
- [53] Weisgraber K.H., Innerarity T.L., Mahley R.W.: Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J. Biol. Chem.*, 1982; 257: 2518-2521
- [54] Wilson H.M., Patel J.C., Russell D., Skinner E.R.: Alterations in the concentration of an apolipoprotein E-containing subfraction of plasma high density lipoprotein in coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta*, 1993; 220: 175-187
- [55] Yamashita S., Sprecher D.L., Sakai N., Matsuzawa Y., Tarui S., Hui D.Y.: Accumulation of apolipoprotein E-rich high density lipoproteins in hyperalphalipoproteinemic human subjects with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J. Clin. Invest.*, 1990; 86: 688-695
- [56] Yokota H., Hashimoto Y., Okubo S., Yumoto M., Mashige F., Kawamura M., Kotani K., Usuki Y., Shimada S., Kitamura K., Nakahara K.: Apolipoprotein A-I deficiency with accumulated risk for CHD but no symptoms of CHD. *Atherosclerosis*, 2002; 162: 399-407
- [57] Zhang W.Y., Gaynor P.M., Kruth H.S.: Apolipoprotein E produced by human monocyte-derived macrophages mediates cholesterol efflux that occurs in the absence of added cholesterol acceptors. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 28641-28646
- [58] Zhu Y., Bellosta S., Langer C., Bernini F., Pitas R.E., Mahley R.W., Assmann G., von Eckardstein A.: Low-dose expression of a human apolipoprotein E transgene in macrophages restores cholesterol efflux capacity of apolipoprotein E-deficient mouse plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 7585-7590
- [59] Zorich N., Jonas A., Pownall H.J.: Activation of lecithin cholesterol acyltransferase by human apolipoprotein E in discoidal complexes with lipids. *J. Biol. Chem.* 1985; 260: 8831-8837

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.