

ОБЗОРЫ

© И.Г.КОВАЛЕНКО, Л.М.БЕРШТЕЙН, 1995

УДК 616-008.931:577.152.34-053-07

И.Г.КОВАЛЕНКО, Л.М.БЕРШТЕЙН

ЛИПОПРОТЕИДЛИПАЗА: СВОЙСТВА, ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ С ВОЗРАСТОМ И ПРИ НЕКОТОРЫХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

НИИ онкологии им. проф. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург

Липопротеидлипаза (ЛПЛ), КФ 3.1.1.34, принадлежит к числу ключевых ферментов, активность которых существенна для реализации значительного числа нормальных и патологических процессов.

Известно, триглицериды (ТГ) транспортируются из кишечника и печени в другие ткани в составе хиломикрон (ХМ) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) соответственно. В эндотелии капилляров кровеносных сосудов ТГ гидролизуются локализованной в них ЛПЛ, соединенной с поверхностью эндотелия через гликозаминогликаны [44]. Высвобождающиеся в процессе реакции свободные жирные кислоты (СЖК) и моноглицериды поступают в клетки, где либо окисляются, либо подвергаются реэстерификации для депонирования [25]. Таким образом, неполярные ТГ трансформируются в более полярные соединения, и в этом процессе ЛПЛ выполняет роль катализатора. В результате ХМ и/или ЛПОНП сокращаются в размерах и превращаются в обогащенные холестерином (ХС) соответственно ремнанты ХМ и липопротеиды промежуточной плотности (ЛППП). Избыток поверхностных компонентов ХМ и ЛПОНП (фосфолипиды, ХС, некоторые апопротеиды) переносится на липопротеиды (ЛП) более высокой плотности. Таким образом, ЛПЛ участвует как в деградации ХМ и ЛПОНП, так и в образовании ЛП низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП) [40]. Образующиеся ремнанты ХМ и ЛППП покидают стенку капилляров, возвращаются в циркуляцию, а затем попадают в печень, где связываются со специфическими рецепторами гепатоцитов на их поверхности и подвергаются интернализации путем эндоцитоза [25].

ЛПЛ обнаружена практически во всех тканях: в жировой и мышечной, в легких, в лактирующей молочной железе, аорте, желтом теле, гранулезных клетках, печени плодов, сердце и др. Несмотря на то, что в этих тканях фермент локализован в люминальной части эндотелия сосудов, синтезируется он в паренхиматозных клетках, откуда неизвестным пока образом транспортируется на поверхность эндотелия [15, 20]. Ген ЛПЛ расположен на восьмой хромосоме, причем структура гена ЛПЛ человека на 87 — 94% идентична таковой у других млекопитающих [51].

Достаточно хорошо изучена ЛПЛ, выделенная из молока, в котором она присутствует в основном в виде димера [37]. Единицы димера идентичны и находятся в обратном равновесии с олигомерами и мономерами. Последние крайне нестабильны и быстро подвергаются конформацион-

ным изменениям с необратимой утратой активности, т.е. димеризация необходима для стабилизации фермента в растворах, но не для проявления каталитической активности. Активный центр фермента достаточно неспецифичен: он гидролизует три-, ди-, моноглицериды, а также фосфолипиды [37]. Фермент наиболее активен в отношении длинноцепочечных ацилглицеридов: 1 молекула ЛПЛ может гидролизовать до 1000 эфирных связей в секунду [45, 52].

Процесс специфического проявления активности ЛПЛ включает в себя 2 стадии. На первой из них фермент связывается с поверхностью частицы субстрата. Затем, на второй стадии, субстрат встраивается в активный центр фермента и подвергается гидролизу. Связывание пары ЛПЛ — субстрат подразумевает в энзиме липидсвязывающего участка, отличного от активного центра. Инкубация ЛПЛ с фрагментами F_{ab} кроличьих антител предотвращает связывание фермента с частицами субстрата - интралипида [36], при этом прекращается и гидролиз ТГ. Последнее указывает на то, что связывание является необходимым этапом для осуществления гидролиза ТГ и процессы связывания и гидролиза — это различные стороны действия фермента.

Активатором ЛПЛ является белок апоС11. Специфичность процесса активации определяется образованием комплекса ЛПЛ — апоС11 на поверхности частицы субстрата [46]. Связывание ЛПЛ с апоС11 в растворе было продемонстрировано при использовании синтетических фрагментов апоС11 с дансильной группой, связанной с N-концом протеина. Образование комплекса ЛПЛ — апоС11 приводит к переносу энергии с триптофановых остатков в молекуле фермента на дансильные группы пептида. Возможно, фрагмент и его активатор образуют комплекс еще в растворе, а впоследствии присоединяются к поверхности субстрата. Однако и активатор, и ЛПЛ могут независимо связываться с субстратом и затем взаимодействовать друг с другом. Последний вариант считается предпочтительным. Возможно, при связывании с липидами и апоС11 подвергаются конформационным изменениям, что увеличивает их способность к взаимодействию [46].

Остается невыясненным вопрос о том, протекает ли процесс взаимодействия ЛПЛ с апоС11 в растворе таким же образом, как и на частицах субстрата. Предполагают существование двух вариантов протекания процесса. Так, способность не связывающихся с липидами фрагментов апоС11 активировать ЛПЛ указывает на то, что локализованные в интерфазе молекулы фермента могут взаимодействовать с водорастворимым активатором. В настоящее время исследователи склоняются к мысли о том, что вначале к субстрату присоединяется активатор (апоС11), облегчая последующее связывание фермента с субстратом [38]. Описанные соображения касались экспериментов, проведенных *in vitro*. Необходимость взаимодействия апоС11 с ЛПЛ для проявления активности последней *in vivo* подтверждается тем, что генетическая недостаточность апоС11 сопровождается тем же, что и генетически запрограммированная недостаточность ЛПЛ, а именно гипертриглицеридемией [13].

Ингибиторами ЛПЛ являются белки апоС111 и, в меньшей степени, апоЕ [51]. Гиперэкспрессия апоС111 может являться причиной гипертриглицеридемии [27]. АпоС111 не является конкурентным по отношению к апоС11 ингибитором ЛПЛ: у этих апопротеидов различные участ-

ки связывания с ЛПЛ [14]. Продемонстрировано угнетение активности ЛПЛ под влиянием СЖК. Связывание СЖК с ЛПЛ может быть уменьшено добавлением в среду альбумина, обладающего большим сродством к СЖК, чем ЛПЛ [8].

Следует упомянуть, что в молекулах ЛПЛ имеется связывающий полианионы участок, ответственный за соединение фермента с эндотелием капилляров. Считают, что энзим удерживается в эндотелии не посредством взаимодействия с его липидами, а через связанные с мембраной гепариноподобные полисахариды [9]. Соединение ЛПЛ с эндотелиальными клетками *in vitro* предотвращается добавлением в среду ферментов, расщепляющих расположенный на поверхности гепаринсульфат [19].

Активность ЛПЛ находится под прямым гормональным контролем, и главную роль в этом играет инсулин. Данное обстоятельство представляется весьма существенным, если принять во внимание закономерное формирование комплекса гипертриглицеридемия — инсулинорезистентность в процессе старения [2, 3] и ту роль, которую эти гормональные нарушения играют в развитии различных типов макросомии [1]. При стрептозотонининдуцированном диабете развивающаяся у животных гипертриглицеридемия нормализуется экзогенным введением инсулина [22]. При введении инсулина человеку активность ЛПЛ возрастает, а уровень ТГ в крови падает [53]. У лиц с гипертензией, гипертриглицеридемией, нарушенной толерантностью к углеводам и инсулинорезистентностью было выявлено снижение активности и количества ЛПЛ в жировой ткани, нормализовавшееся при назначении безафибрата [28].

Тем не менее в целом вопрос о связи гиперинсулинемии с активностью ЛПЛ нельзя считать до конца выясненным. Так, например, у индейцев племени Пима, для которых характерно раннее развитие ожирения, резистентность к инсулину сочетается с более медленным последующим накоплением жира в теле [47]. С другой стороны, у животных с ожирением отмечают инсулинорезистентность и диабет [26]; большинство больных инсулиннезависимым диабетом на фоне инсулинорезистентности страдают ожирением [32]. Из адипоцитов крыс с ожирением и диабетом в большем количестве, чем из нормальной жировой ткани, выделен фактор некроза опухолей — альфа, экзогенное введение которого вызывает развитие стойкой резистентности к инсулину, гипертриглицеридемии, снижение активности ЛПЛ [23, 24, 30]. При голодании, сопровождающемся гипоинсулинемией, активность ЛПЛ снижается в жировой ткани, увеличивается в печени, в *m. soleus* и *m. vastus lateralis* (быстрой красной), не меняется в сердце и *m. vastus lateralis* (быстрой белой) [29, 41]. В целом показано, что наибольшей чувствительностью к инсулину обладает ЛПЛ жировой ткани [22].

Гормоны, увеличивающие содержание цАМФ в жировой ткани (катехоламины, АКТГ, глюкагон, тиреотропин-рилизинг гормон, глюкокортикоиды), снижают в ней активность ЛПЛ [20]. В то же время было показано, что в культуре адипоцитов инсулин увеличивал активность ЛПЛ за счет стимуляции ее синтеза, а дексаметазон потенцировал эффект инсулина, т.е. дополнительно увеличивал активность ЛПЛ, не влияя на скорость синтеза фермента. Скорость деградации ЛПЛ замедлялась, если в среду, помимо инсулина, добавляли дексаметазон [6].

При различных физиологических состояниях организма активность

ЛПЛ в различных тканях меняется неодинаково. После еды активность фермента возрастает в жировой ткани, падает в сердце, а в скелетной мускулатуре и легких может как увеличиваться, так и снижаться. При холодовом стрессе активность ЛПЛ интенсифицируется во всех тканях; при ожирении возрастает в жировой ткани; при лактации увеличивается в молочной железе и уменьшается в жире [20].

По некоторым, пока немногочисленным данным, старение сопровождается снижением, а развитие (ранний период онтогенеза) — увеличением активности ЛПЛ в ряде тканей организма [12, 18, 49].

При изучении влияния физической нагрузки как модификатора значительного числа гормонально-метаболических нарушений и состава тела показано, что принудительный бег крыс на тредбане 1 ч/день в течение 8 нед. сопровождается снижением активности ЛПЛ в эпидидимальном жире по сравнению с аналогичным показателем у контрольных животных. В случае если крысы 1 нед. “бегали”, а 1 нед. “отдыхали”, в периоды “отдыха” активность ЛПЛ возрастала до значений, превышающих таковые у животных контрольной группы; аналогичные колебания отмечались в отношении массы тела [21]. В то же время у тренированных женщин (стайеры) по сравнению с женщинами, ведущими сидячий образ жизни, уровень ХС ЛПВП в крови оказался выше, а ТГ — ниже. При этом у спортсменов активность ЛПЛ, как и скорость клиренса жира из циркуляции, были увеличены на 33% [39].

Активность ЛПЛ определяли в жировой ткани у курящих и некурящих людей, а затем через 5—9 нед. после прекращения курения. Активность фермента натошак не различалась у курящих и некурящих лиц в расчете на 10^6 клеток, но была существенно увеличена в первой группе при стандартизации размеров адипоцитов. Через 4 ч. после глюкозной нагрузки отмечалось падение активности ЛПЛ у курящих, у некурящих лиц, напротив, было обнаружено повышение ее активности, была выявлена также тенденция к увеличению активности фермента после нагрузки глюкозой и у бывших курильщиков. Концентрации в крови инсулина и глюкозы не различались во всех трех группах, но только у курящих процент падения активности ЛПЛ после глюкозной нагрузки обратно пропорционально коррелировал с выбросом инсулина в кровь (т.е. чем выше был выброс инсулина, тем в меньшей степени снижалась активность ЛПЛ) [17]. Таким образом, меньшая масса тела у курящих людей соответствует парадоксальному ответу ЛПЛ жировой ткани на углеводы; не исключено, что такого рода зависимость способствует увеличению массы тела, часто наблюдаемому после прекращения курения. Действительно, чем выше у курящих людей активность ЛПЛ в жировой ткани, тем быстрее происходит у них увеличение массы тела после прекращения курения [16].

Поскольку снижение активности ЛПЛ в организме сопровождается уменьшением образования антиатерогенной фракции ЛП — ЛПВП, падение активности этого фермента может способствовать развитию атеросклероза [34, 43]. У больных ишемической болезнью сердца нередко отмечается гипертриглицеридемия, причиной которой является нарушение катаболизма богатых ТГ ЛП [5]. Изучение скорости клиренса введенных внутривенно липидов показало, что у больных раком различных локализаций при сохраненном объеме потребляемой пищи как удельная скорость клиренса, так и максимальная способность к клиренсу были ниже,

чем у здоровых людей, т.е. наличие опухоли в организме приводит к нарушению функциональной активности ЛПЛ [33]. Исследование образцов тканей различных видов сарком и карцином человека показало, что все они обладают липопротеидлипазной активностью (особенно высокой в быстро пролиферирующих опухолях), аналогичной таковой в жировой ткани [42]. Наличие липопротеидлипазной активности было выявлено также в лейкозных клетках человека ТНР-1 [48], в асцитной жидкости мышей с карциномой 180 [31] и с карциномой Эрлиха [7]. У животных с трансплантированной подкожно карциномой Эрлиха обнаружено падение активности ЛПЛ в жировой ткани, начиная с ранних стадий роста опухолей, что, по мнению авторов, является основной причиной истощения запасов жира в теле в процессе экспериментального канцерогенеза. При этом не было выявлено изменений активности фермента у сытых и голодных животных-опухоленосителей, т.е. регуляция активности ЛПЛ при росте опухоли нарушается [35]. Отмечалось и снижение активности ЛПЛ в жировой ткани у мышей с препуциальной опухолью ESR-586 при одновременном увеличении активности фермента в ткани самой опухоли [50]. Наконец, у крыс с лимфосаркомой Плисса на фоне гипoinsулинемии и неизменной скорости синтеза жирных кислот в печени и в ткани опухоли развиваются выраженные гипертриглицеридемия и кахексия, что, по-видимому, определяется падением скорости катаболизма богатых ТГ ЛП за счет снижения активности ЛПЛ в здоровых тканях [4].

Достаточно давно установлено, что в организме опухоленосителей под влиянием эндотоксинов макрофагами выделяется белок кахектин, подавляющий активность ЛПЛ *in vitro* и *in vivo* и функционирующий как гормон, мобилизующий энергетические затраты организма в ответ на опухолевую инвазию; очищенный кахектин обладает в этом отношении той же активностью, что и фактор некроза опухолей человека [10]. На основании результатов исследований, проведенных в последнее время, возникает вопрос о том, каким образом фактор некроза опухолей способствует истощению запасов жира (кахексии) в организме, с одной стороны, и связанной с ожирением инсулинорезистентности, с другой. Возможно, это определяется тем, что количество фактора некроза опухолей, синтезируемое адипоцитами животных с ожирением, или количество этого фактора, вводимое экзогенно для развития резистентности к инсулину, несравненно меньше, чем то, которое ведет к формированию других метаболических нарушений в организме, включая кахексию [11]. Следует иметь в виду, что при ряде новообразований у человека (рак эндометрия, постменопаузальная форма рака молочной железы и т.д.) состояние кахексии, как правило, не развивается, и в силу этого исследование при данных заболеваниях особенностей регуляции активности ЛПЛ в жировой и мышечной тканях представляет несомненную важность.

В заключение хотелось бы отметить, что, поскольку ЛПЛ во многом определяет спектр ЛП крови в организме, оказывающий влияние на развитие и течение ряда основных неинфекционных заболеваний человека, дальнейшее изучение изменений активности фермента при различных видах патологии поможет объяснить причины развития последних и разработать методы их лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берштейн Л.М. // Успехи соврем. биол. — 1991. — № 5. — С. 765-781.
2. Дильман В.М. Эндокринологическая онкология. — Л., 1983.
3. Дильман В.М. Четыре модели медицины. — Л., 1987.
4. Коваленко И.Г. // Эксперим. онкол. — 1986. — № 2. — С. 60-63.
5. Никольцева Н.Г., Солитернова И.Б., Криворученко И.В. // Вопр. мед. химии. — 1980. — Вып. 6. — С. 808-813.
6. Appel B., Fried S.K. // Amer. J. Physiol. — 1992. — Vol. 262. — P. E695-E699.
7. Balint Z., Holecinger L. // Bull. Cancer. — 1984. — Vol. 71. — P. 412-418.
8. Bengtsson G., Olivecrona T. // Europ. J. Biochem. — 1980. — Vol. 106. — P. 557-562.
9. Bengtsson G., Olivecrona T., Hook M. et al. // Biochem. J. — 1980. — Vol. 189. — P. 625-633.
10. Beutler B., Milsark I.W., Cerami A.C. // Science. — 1985. — Vol. 229. — P. 869-871.
11. Beutler B., Krochin N., Milsark I.W. et al. // Ibid. — 1986. — Vol. 232. — P. 977-980.
12. Bradows K., Campbell L.M. // New Engl. J. Med. — 1974. — Vol. 287. — P. 969-970.
13. Breckenridge W.C., Little J.A., Steiner G. et al. // Ibid. — 1978. — Vol. 298. — P. 1265-1273.
14. Brown W.V., Baginsky M.L. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1972. — Vol. 46. — P. 375-382.
15. Camps L., Reina M., Llobera M. et al. // Amer. J. Physiol. — 1990. — Vol. 258. — P. C673-C681.
16. Carney R.M., Goldberg A.P. // New Engl. J. Med. — 1984. — Vol. 310. — P. 614-616.
17. Chajek-Shaul T., Berry E.M., Ziv E. et al. // Europ. J. clin. Invest. — 1990. — Vol. 20. — P. 299-304.
18. Chen Y., Reaven G. // J. Geront. — 1981. — Vol. 36. — P. 3-6.
19. Cheng C.-F., Costa G.M., Bensadoun A., Rosenberg R.D. // J. biol. Chem. — 1981. — Vol. 256. — P. 12893-12898.
20. Cryer A. // Int. J. Biochem. — 1981. — Vol. 13. — P. 524-541.
21. Deshaies Y., Lortie G., Richard D. // Canad. J. Physiol. Pharmacol. — 1990. — Vol. 68. — P. 157-163.
22. Deshaies Y., Deloan A., Paulin A., Bukowiecki L.J. // Ibid. — 1991. — Vol. 69. — P. 746-751.
23. Feingold K.R., Grunfeld C. // J. clin. Invest. — 1987. — Vol. 80. — P. 184-190.
24. Grunfeld C., Gulli R., Moser A.H. et al. // J. Lipid Res. — 1989. — Vol. 30. — P. 579-585.
25. Havel R.J., Goldstein J.L., Brown M.S. // Metabolik Control and Disease / Eds, P.Bony, L.Rosenberg. — Philadelphia, 1980. — P. 393-494.
26. Hotamisligil G.S., Shargill N.S., Spiegelman B.M. // Science. — 1993. — Vol. 259. — P. 87-91.
27. Ito Y., Azrolan N., O'Connell A. et al. // Ibid. — 1990. — Vol. 249. — P. 790-793.
28. Kabayashi J., Takabachi K., Tashiro J. et al. // Drug Res. — 1994. — Vol. 44. — P. 145-148.
29. Ladu M.J., Kapras H., Palmer W.K. // Amer. J. Physiol. — 1992. — Vol. 260. — P. R953-R959.
30. Lang C.H., Dobrescu C., Bagby G.J. // Endocrinology. — 1992. — Vol. 130. — P. 43-52.
31. Masuno H., Ocuda H. // Europ. J. Cancer Clin. Oncol. — 1985. — Vol. 21. — P. 727-732.
32. Moller D.E., Flier J.S. // New Engl. J. Med. — 1991. — Vol. 325. — P. 938-948.
33. Muscaritoli M., Cangiano C., Cascino A. et al. // Nutrition. — 1990. — Vol. 6. — P. 147-151.
34. Nikkila E.A., Taskinen M.R., Kekki M. // Atherosclerosis. — 1978. — Vol. 29. — P. 497-501.
35. Obeid O.A., Emery P.W. // Nutr. and Cancer. — 1993. — Vol. 19. P. 87-98.
36. Olivecrona T., Bengtsson G. // Biochim. biophys. Acts. — 1983. — Vol. 752. — P. 38-45.
37. Olivecrona T., Bengtsson G. // Lipases / Eds B.Borgstrom, H.L.Brockman. — Amsterdam, 1984. — P. 205-261.
38. Olivecrona T., Bengtsson-Olivecrona G. // Cologne Atherosclerosis Conference. No.2; Lipids / Ed. M.J.Parnham. — Basel, 1984. — P. 55-67.
39. Podl T.R., Zmuda J.M., Yurgalevich S. et al. // Metabolism. — 1994. — Vol. 43. — P. 808-813.
40. Quinn D., Shirai K., Jackson R.L. // Progr. Lipid Res. — 1983. — Vol. 22. — P. 35-78.
41. Reinado-Onsurbe J., Soler C., Soley M. et al. // Biochim. biophys. Acta. — 1992. — Vol. 1125. — P. 82-89.
42. Sakayama K., Masuno H., Miyazaki T. // Jap. J. Cancer Res. — 1994. — Vol. 85. — P. 515-521.
43. Schafer E.J., Anderson D.W., Brewer H.B. et al. // Lancet. — 1978. — Vol. 2. — P. 391-393.
44. Scow R.O., Hamosh M., Blanchette-Macki E.J. // Lipids. — 1972. — Vol. 7. — P. 497-505.
45. Scow R.O., Olivecrona T. // Biochim. biophys. Acts. — 1977. — Vol. 487. — P. 472-486.
46. Smith L.C., Pownall H.J. // Lipases / Eds B.Borgstrom, H.L.Brockman. — Amsterdam, 1984. — P. 263-305.
47. Swinburn B.A., Nyomba B.L., Saad M.F. et al. // J. clin. Invest. — 1991. — Vol. 88. — P. 168-173.

48. *Tajima S., Hayashi P., Tsuchiya S. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1985. — Vol. 126. — P. 526-531.*
49. *Tavangar K., Murata Y., Patel S. et al. // Amer. J. Physiol. — 1992. — Vol. 262, Pt. 1. — P. E330-E337.*
50. *Thompson M.P., Koons J.E., Tan E.T.H. // Cancer Res. — 1981. — Vol. 41. — P. 3228-3232.*
51. *Wang C.-S., Bass H., Whitmer R., McConathy W.J. // J. Lipid Res. — 1993. — Vol. 34. — P. 2091-2098.*
52. *Wang O.-W., Hartsuck J., McConathy W.J. // Biochim. biophys. Acta. — 1992. — Vol. 1123. — P. 1-17.*
53. *Yki-Gozvinen H., Taskinen M., Koivisto V., Nikkila E. // Diabetologia. — 1984. — Vol. 27. — P. 364-369.*

Поступила 12.04.95