

Potencial proaterogénico de la asociación entre quilomicrones y lipopolisacáridos. Planteo de una hipótesis

Pro-atherogenic potential of the association between chylomicrons and lipopolysaccharides. Posing a hypothesis

Dra. Carolina Olano¹, Dra. Laura Schreier¹, Dra. Valeria Zago¹

¹ Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires (UBA). Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica de Investigación (Infibioc), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

QUILOMICRONES Y POTENCIAL ATEROGENICO

Los quilomicrones (QM) son las lipoproteínas más grandes, constituidas en un 90% por triglicéridos (TG), que se producen en los enterocitos intestinales en respuesta a la ingestión de grasa y cumplen la función de transportar los lípidos ingeridos hacia diferentes tejidos para su uso energético o almacenamiento. La enzima lipoproteinlipasa (LPL), de ubicación extravascular y con actividad fundamentalmente TG-hidrolasa, tiene como principal sustrato a los QM, que hidrolizan sus TG y generan productos de degradación denominados QM remanentes. Se postula que los QM remanentes –sumados a los remanentes de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)– desempeñarían un papel relevante en el riesgo residual cardiovascular y contribuirían al proceso aterogénico.¹ Si bien las partículas de QM son de gran tamaño para atravesar la pared vascular, las partículas de QM remanentes adquieren un tamaño necesario para entrar al espacio subendotelial y contribuir a la formación de la placa de ateroma. Como producto de la lipólisis de los TG del QM se liberan ácidos grasos, que muestran una acción deletérea sobre las

células de la pared arterial. Además, pueden alterar la función endotelial y desencadenan procesos inflamatorios mediante el aumento de las citoquinas proinflamatorias, la expresión de las moléculas de adhesión y la activación de los monocitos. Los ácidos grasos que logran atravesar el subendotelio se oxidan y promueven el sostenimiento de la oxidación mediante especies reactivas de oxígeno, que contribuyen al estado oxidativo.² Es decir que la lipólisis de los QM en la superficie de la pared arterial ejerce acciones proinflamatorias y oxidativas y, por ende, proaterogénicas, lo que parece estar condicionado, en parte, por el contenido de los TG de la partícula y su grado de lipólisis. Se debe tener en cuenta que las alteraciones en la composición y la estructura de los QM determinan de manera directa la afinidad de la LPL sobre la lipoproteína, influyendo en el tiempo de circulación y en la pared arterial.

Como es sabido, el aumento en la producción de QM intestinales y sus remanentes es frecuente en condiciones prevalentes, como la obesidad, la diabetes tipo 2 y otros estados de resistencia a la insulina (RI); estas partículas, junto con las lipoproteínas de síntesis hepática –VLDL–, constituyen la hipertrigliceridemia posprandial observada en estas condiciones.³ Si bien la presencia de remanentes lipoproteicos en situaciones de

Correspondencia:
Dra. Valeria Zago, e-mail: vzago@ffyba.uba.ar

RI se ha estudiado bien, en muchos casos no se ha distinguido la proveniencia o el origen de los remanentes, ya sean de VLDL de síntesis hepática o de QM de síntesis intestinal. Asimismo, muchos otros trabajos se han focalizado en el estudio de las VLDL, dado que son los mayores constituyentes en número de partículas de la hipertrigliceridemia posprandial. No obstante, ambas lipoproteínas podrían diferir en sus características, lo que les podría conferir un papel distinto en la progresión de la enfermedad cardiovascular. En estudios previos, tanto en modelos con animales como en pacientes con RI, demostramos que las alteraciones cualitativas de las lipoproteínas ricas en TG se asociaban con mayor disfunción endotelial, lo que contribuyó al riesgo cardiovascular asociado con la RI.^{4,5} Sin embargo, el estudio cualitativo de las características de los QM no se ha abordado específicamente, lo cual parece adjudicarse a las dificultades tanto en su aislamiento como en su caracterización.

El objetivo del presente artículo es exponer el surgimiento de algunas hipótesis, sobre la base de diferentes aspectos del metabolismo de los QM aún no dilucidados, especialmente en un contexto de RI, disbiosis o ambas, que les adjudicaría potencialidad proaterogénica a estas lipoproteínas.

MICROBIOTA INTESTINAL, RI Y DIETA

Hoy en día, se reconoce al intestino como un órgano sensible a la insulina que participa activamente regulando el proceso de síntesis y secreción de los QM en relación con sustratos, hormonas y otras sustancias, condicionando el número y las características de las partículas secretadas. El intestino humano está colonizado por microorganismos (bacterias, protozoos, hongos y virus) que conforman la microbiota intestinal (MI). A su vez, la MI está compuesta mayoritariamente por bacterias distribuidas en un conjunto de más de 1000 especies en individuos humanos sanos, a partir de las cuales se ha basado el estudio de la microbiota.⁶ La MI tiene la capacidad de modular la composición de los lípidos de la dieta, la digestión y la absorción, afectando no solo el metabolismo de los lípidos, sino también alterando potencialmente la formación de las lipoproteínas intestinales.⁷

En la actualidad, la MI es reconocida como un factor emergente de riesgo cardiometabólico, particularmente en enfermedades asociadas con la alteración de la MI (disbiosis), como la RI. En estudios llevados a cabo tanto en animales como en seres humanos se ha observado que la composición y la funcionalidad de la MI difiere entre individuos obesos y delgados o en personas con trastornos metabólicos.⁸ Se han propuesto varios mecanismos que contribuyen a explicar el vínculo entre la MI y la RI/obesidad, entre ellos, la inducción de un proceso inflamatorio subclínico crónico, característico de estos pacientes.⁹

Uno de los factores más importantes que afectan el estado de la microbiota es, indudablemente, la dieta. De hecho, en estudios recientes se ha demostrado que las dietas ricas en grasas o los patrones dietarios occidentales (rica en grasas y azúcares) se asocian con alteraciones en la composición y la diversidad de la MI, lo que podría contribuir en la evolución de un perfil metabólico aterogénico.^{10,11} Este tipo de dietas modula la composición de la MI al disminuir la prevalencia de bacterias específicas, protectoras de la barrera intestinal, y aumentando la prevalencia de patógenos oportunistas que pueden liberar antígenos libres, como los lipopolisacáridos (LPS).¹² Este desequilibrio se asocia, entre otras cosas, con mayor permeabilidad intestinal, que favorece la absorción de endotoxinas bacterianas y conduce a niveles más altos de LPS y factores proinflamatorios que inducen un cuadro de inflamación subclínica y, finalmente, la aparición de alteraciones metabólicas, como la RI. Además, hay que tener en cuenta que estos patrones inadecuados de nutrición, además de impactar en la MI, están directamente relacionados con la aparición de otras enfermedades crónicas que cursan con RI.¹³ Con base en estas observaciones surge el cuestionamiento de si la alteración en la MI, observada en la RI, es consecuencia de la propia RI o es producto del patrón dietario que se consume.

Si bien existe un vínculo intrincado entre MI-obesidad/RI-dieta, se postula que la disbiosis inducida por la dieta, en asociación con un estado de RI, podría impactar sobre la síntesis y la secreción intestinal de los QM generando partículas modificadas con mayor carácter aterogénico. Hasta el momento se desconocen las modificaciones de las lipoproteínas intestinales y su impacto en el

camino catabólico, en el contexto de la alteración de la MI, y, más aún, la capacidad aterogénica de sus productos remanentes.

LPS, PERMEABILIDAD INTESTINAL E INFLAMACIÓN

Los LPS, también denominados endotoxinas, son componentes inflamatorios de la membrana externa de las bacterias gramnegativas. Los LPS producen inflamación mediante la activación del receptor del LPS bacteriano, denominado TLR4, que se expresa en células inmunitarias, como los macrófagos, y en muchos otros tipos celulares, incluidos los hepatocitos y los adipocitos. Estas endotoxinas en el plasma se asocian principalmente con lipoproteínas y presentan mayor afinidad por los QM. Se sugiere que esta asociación promueve su catabolismo mientras reduce sus efectos proinflamatorios.¹⁴ Además, los enterocitos pueden internalizar LPS a través de una ruta transcelular que implica un mecanismo dependiente de TLR4, y este puede incorporarse a los QM.¹⁵ Después de la ingestión de alimentos ricos en grasas, las concentraciones plasmáticas de LPS aumentan aproximadamente un 50%, lo que indica que la absorción de LPS a nivel intestinal está directamente asociada con la absorción de grasas dietarias.¹⁶ Por lo tanto, los QM no solo transportan grasa posprandial, sino también cantidades de LPS intestinales absorbidos de manera concomitante. Este concepto conduce a plantear que el enriquecimiento en LPS de los QM contribuiría a la modificación de estas partículas, alterando su calidad como sustrato de la LPL e impactando en su catabolismo normal. En general, el impacto de los LPS en la aparición de inflamación sistémica y endotoxemia¹⁷ está bien establecido. Sin embargo, el papel de los LPS que forman parte de los QM aún se desconoce. El contenido de los LPS en los QM remanentes podría contribuir a su naturaleza proaterogénica, ya que las concentraciones elevadas de LPS circulantes se correlacionan bien con el aumento del riesgo de aterosclerosis.¹⁸ Se ha demostrado que la inyección de LPS acelera la formación de la placa aterosclerótica, tanto en ratones como en conejos,^{19,20} mientras que en ratones *knock-out*, apolipoproteína (Apo) E *-/-*, que además presentan una delección genética del receptor para LPS, TLR4, se observa una formación significativamente menor o reducida de la placa.²¹

Sin embargo, cabe resaltar que aún se desconoce si los LPS, solos o asociados con los QM remanentes, son responsables de estas condiciones. Los QM remanentes están relativamente enriquecidos en colesterol, pueden acumularse en el espacio subendotelial y, al igual que los remanentes de VLDL, que contienen ApoB100, alterarían la función endotelial.²² En estudios previos hemos comprobado, mediante bioensayos para evaluar función endotelial, que la alteración de las VLDL –como parte del conjunto de lipoproteínas ricas en TG– ejercían disfunción endotelial tanto como las lipoproteínas de baja densidad (LDL).²³ De estos resultados emerge la hipótesis de que los QM enriquecidos en LPS, resultantes de la alteración en la microbiota, también podrían tener un impacto sobre la función endotelial.

DESTINO DE LOS TG DIETARIOS EN LA DISBIOSIS: ¿QUILOMICRONES O DEPÓSITO ECTÓPICO INTESTINAL? PAPEL DE LA PROTEÍNA DE TRANSFERENCIA DE TG MICROSOMAL

La síntesis de los QM es un proceso complejo que involucra varios pasos.²⁴ La proteína de transferencia de TG microsomal (MTTP) cataliza el ensamblaje de TG, ésteres de colesterol y fosfolípidos a la ApoB-48, generando una partícula de QM primarios.²⁵ Esta partícula de QM puede almacenarse en la membrana apical del retículo endoplasmático antes de ser secretada como QM maduros. Por lo tanto, las alteraciones en la expresión o la actividad de MTTP podrían contribuir a la formación de partículas de QM modificadas, afectando su catabolismo normal, o podrían favorecer el depósito ectópico de TG en el intestino, impactando en la función de este órgano. Una menor expresión de la MTTP intestinal, ya sea por mutaciones genéticas o alteraciones experimentales específicas en modelos con animales, demuestran una reducción del 80% en la producción de QM, acompañada con distintos grados de esteatosis intestinal.^{26,27} Por el contrario, las situaciones de RI o la dieta favorecen la expresión o la actividad de esta proteína, aumentando la síntesis y la secreción de las lipoproteínas intestinales.²⁸ Sin embargo, existen escasos estudios acerca del comportamiento de la MTTP intestinal en situaciones de disbiosis y no se ha informado acerca de su relación con las características de los QM

sintetizados, más allá de su concentración. Tampoco se ha descrito si los depósitos de grasa intestinal, en un entorno de alteración de la MI, también tienen efecto sobre el contenido de los TG de las partículas de QM. Desde este punto de vista, se plantea la hipótesis de que los cambios en la MI inducidos por la dieta impactan en la síntesis de los QM, generando partículas modificadas con un efecto directo sobre su camino catabólico y la pared arterial.

OBSERVACIONES EXPERIMENTALES

Para un planteo inicial de las hipótesis planteadas, el uso de animales de laboratorio permite contar con modelos fisiopatológicos adecuados como la RI, la disbiosis o ambas, establecer diseños transversales, prospectivos y de intervención, además de disponer de la accesibilidad de órganos y tejidos. El modelo que presenta gran similitud con el del ser humano, en cuanto al metabolismo de los QM, es el hámster dorado sirio;²⁹ sin embargo, las ratas de laboratorio han servido como un buen modelo en la mayoría de los estudios sobre lipoproteínas, dada la practicidad en su manejo y mantenimiento. Además, presentan niveles de lipoproteínas ricas en TG, incluso mayores que los seres humanos, lo que facilita su aislamiento y estudio. En un estudio preliminar que implementó un modelo animal de ratas con disbiosis intestinal inducida por una dieta rica en grasas y sacarosa, hemos evaluado las características químicas de los QM, su asociación con la expresión de MTTP y con el eventual depósito de grasa intestinal. El grupo de animales que recibió la dieta prodisbiótica mostró un perfil lipídico-metabólico aterogénico, asociado a su vez con el grado de RI. Los niveles de LPS fueron mayores, lo que reflejó el aumento en la permeabilidad intestinal, característico de la enterodisbiosis. Las partículas de QM del grupo con disbiosis presentaron mayor contenido de TG que el usual, que se asoció en forma directa con los niveles de LPS, lo cual parece confirmar que la alteración de la microbiota modula la composición de los QM. Los QM sobreenriquecidos en TG pueden constituir un mejor sustrato para la LPL, liberando ácidos grasos y favoreciendo la formación de partículas remanentes de menor tamaño que podrían dirigirse hacia el subendotelio. Además, el grupo con disbiosis mostró un incremento en la expresión de MTTP y mayor contenido de grasa depositada en las células intestinales. La asociación

significativa demostrada entre esta proteína, los TG-QM y la grasa intracelular intestinal sugiere que, en este contexto metabólico de RI con disbiosis intestinal, la MTTP promueve la secreción de partículas de QM sobreenriquecidos en TG con un depósito concomitante de grasa en el intestino.

CONCLUSIONES

Sobre la base de lo mencionado, emergen varias hipótesis a confirmar con respecto al posible impacto de los QM en diferentes estadios de degradación sobre la pared vascular: en primer lugar, las alteraciones en la composición química de los QM y de sus productos remanentes pueden influir en la afinidad con la LPL y en su potencialidad lesiva y prooxidativa sobre el escenario de la pared arterial; en segundo lugar, los estados de RI se asocian con enterodisbiosis e impactan en las características y la producción/secreción de los QM; en tercer lugar, las variaciones en la síntesis o la actividad de la MTTP, vinculada con la RI y la enterodisbiosis, podrían asociarse con el depósito ectópico de grasa en el tejido intestinal e inducir la formación de lipoproteínas modificadas; por último, los QM que se sintetizan en un ámbito de alteración de la microbiota se enriquecen con las endotoxinas, como los LPS, lo cual parece incrementar las acciones proinflamatorias y la alteración de la función endotelial. Deben realizarse nuevas investigaciones para aclarar estos puntos de gran interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ginsberg H, Packard C, Chapman M, Borén J, Aguilar-Salinas C, Averna M, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and their remnants: metabolic insights, role in atherosclerotic cardiovascular disease, and emerging therapeutic strategies—a consensus statement from the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 42(47):4791-4806, 2021.
2. Schwartz EA, Reaven PD. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins, vascular inflammation, and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 1821(5):858-866, 2012.
3. Masuda D, Yamashita S. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *J*

Atheroscler Thromb 24(2):95-109, Feb 2017.

4. Olano C, Lucero D, Gorzalczy S, Morales C, Burszty M, Friedman S, et al. Endothelial dysfunction in insulin-resistance: effect of supplementation with oleic acid from high oleic sunflower oil. *Medicina* 76(1):120, 2016.

5. Lucero D, López GI, Gorzalczy S, Duarte M, González Ballerga E, Sordá J, Schreier L, Zago V. Alterations in triglyceride rich lipoproteins are related to endothelial dysfunction in metabolic syndrome. *Clin Biochem* 49(12):932-935, Aug 2016.

6. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek* 113(12):2019-2040, Dec 2020.

7. Yu Y, Raka F, Adeli K. The role of the gut microbiota in lipid and lipoprotein metabolism. *J Clin Med* 8(12):2227, Dec 2019.

8. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Dalamaga M. Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: current evidence and perspectives. *Curr Obes Rep* 8(3):317-332, Sep 2019.

9. Lee CJ, Sears CL, Maruthur N. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1461(1):37-52, Feb 2020.

10. Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, Lopetuso L, Scalfaferrì F, Pulcini G, et al. Food components and dietary habits: keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients* 11(10):2393, Oct 2019.

11. Rosas-Villegas A, Sánchez-Tapia M, Avila-Nava A, Ramírez V, Tovar AR, Torres N. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal microbiota and kidney oxidative stress. *Nutrients* 9(4):393, Apr 2017.

12. Fuke N, Nagata N, Suganuma H, Ota T. Regulation of gut microbiota and metabolic endotoxemia with dietary factors. *Nutrients* 11(10):2277, Sep 2019.

13. Adeva Andany MM, González Lucán M, Fernández Fernández C, Carneiro Freire N, Seco Filgueira M, Pedre Piñeiro AM. Effect of diet

composition on insulin sensitivity in humans. *Clin Nutr ESPEN* 33:29-38, Oct 2019.

14. Vors C, Pineau G, Draï J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, et al. Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and lipopolysaccharides handling in obese versus lean men: a lipid dose-effect trial. *J Clin Endocrinol Metab* 100:3427-3435, 2015.

15. Verhaar BJH, Prodan A, Nieuwdorp M, Muller M. Gut Microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review. *Nutrients* 12(10):2982, Sep 2020.

16. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res* 50:90-97, 2009.

17. Stoll LL, Denning GM, Weintraub NL. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:2227-2236, 2004.

18. Ostos MA, Recalde D, Zakin MM, Scott Algara D. Implication of natural killer T cells in atherosclerosis development during a LPS-induced chronic inflammation. *FEBS Lett* 519:23-29, 2002.

19. Lehr HA, Sagban T, Ihling C, Zähringer U, Ungerer K, Blumrich M, et al. Immunopathogenesis of atherosclerosis: endotoxin accelerates atherosclerosis in rabbits on hypercholesterolemic diet. *Circulation* 104:914-920, 2001.

20. Doddapattar P, Gandhi C, Prakash P, Dhanesha N, Grumbach I, Dailey M, et al. Fibronectin splicing variants containing extra domain a promote atherosclerosis in mice through Toll-like receptor 4. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35:2391-2400, 2015.

21. Michelsen KS, Wong M, Shah P, Zhang W, Yano J, Doherty T, et al. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:10679-10684, 2004.

22. Proctor SD, Mamo JC. Intimal retention of cholesterol derived from apolipoprotein B100- and apolipoprotein B48-containing lipoproteins in carotid arteries of Watanabe heritable

hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23(9):1595-1600, 2003.

23. Zago V, Gorzalczany S, Lucero D, Taira C, Schreier L. Role of HDL in neutralizing the VLDL effect on endothelial dysfunction. *Microvasc Res* 89:153-158, Sep 2013.

24. Ko C-W, Qu J, Black DD, Tso P. Regulation of intestinal lipid metabolism: current concepts and relevance to disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 17(3):169-183, Mar 2020.

25. Iqbal J, Jahangir Z, Al-Qarni AA. Microsomal triglyceride transfer protein: from lipid metabolism to metabolic diseases. *Adv Exp Med Biol* 1276:37-52, 2020.

26. Shoulders CC, Brett DJ, Bayliss JD, Narcisi TM, Jarmuz A, Grantham TT, et al.

Abetalipoproteinemia is caused by defects of the gene encoding the 97 kDa subunit of a microsomal triglyceride transfer protein. *Hum Mol Genet* 2:2109-2116, 1993.

27. Xie Y, Newberry EP, Young SG, Robine S, Hamilton RL, Wong JS, et al. Compensatory increase in hepatic lipogenesis in mice with conditional intestine-specific Mttp deficiency. *J Biol Chem* 281(7):4075-4086, Feb 2006.

28. Hussain MM, Nijstad N, Franceschini L. Regulation of microsomal triglyceride transfer protein. *Clin Lipidol* 6:293-303, 2011.

29. Navarro MA, Arbonés JM, Acín S, Carnicer R, Sarría AJ, Surra JC, et al. Experimental animals used as models in arteriosclerosis research. *Clin Invest Arterioscl* 17(2):82-93, 2005.