

ATEROSCLEROSI E LIPOPROTEINE POSTPRANDIALI



Elena Bravo e Mariarosaria Napolitano

Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, ISS

RIASSUNTO - L'aterogenità delle lipoproteine deriva dalla loro capacità di attraversare l'endotelio vasale e indurre accumulo lipidico nei macrofagi, trasformandoli in *foam cell*, focolai primari dell'ateroma. È nota l'aterogenicità delle Low Density Lipoprotein (LDL) modificate, mentre è di più recente acquisizione il concetto che una rallentata rimozione epatica dei *remnant* dei chilomicroni, lipoproteine che trasportano i lipidi alimentari dall'intestino al fegato, aumenta marcatamente il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari, come accade nel diabete, obesità e insufficienza renale. Pertanto è chiaro che l'identificazione di nuovi interventi di salute pubblica, tesi a diminuire le malattie cardiovascolari, richiedono una maggiore conoscenza dei meccanismi regolatori delle dislipidemie postprandiali. Da anni il lavoro del nostro gruppo all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) focalizza la sua attività sullo studio dei meccanismi patogenetici dei *remnant* dei chilomicroni e ha dimostrato che, diversamente dalle LDL, i *remnant* alimentari non necessitano di modificazioni ossidative per indurre accumulo lipidico nei macrofagi.

Parole chiave: aterosclerosi, *remnant* dei chilomicroni, macrofagi

SUMMARY (*Atherosclerosis and postprandial lipoproteins*) - Increasing evidence indicates that dietary lipids, carried by chylomicron remnants, promote the development of atherosclerotic lesions during their transport from the intestine to the liver. The elucidation of the mechanisms involved in these atherogenic effects will aid in the identification of new intervention against cardiovascular diseases. Delayed clearance of chylomicron remnants from the blood occurs in a number of dyslipidemias, as diabetes, obesity and renal failure, associated with premature atherosclerosis development. A working group research at the Italian National Institute of Health contributed to demonstrate that, after the penetration into the arterial wall, chylomicron remnants can cause macrophage lipid accumulation and foam cell formation, which are early hallmarks of atherosclerosis. Differently from Low Density Lipoprotein (LDL), oxidative modification of the remnant particles is not required for many of these effects.

Key words: atherosclerosis, chylomicron remnants, macrophages

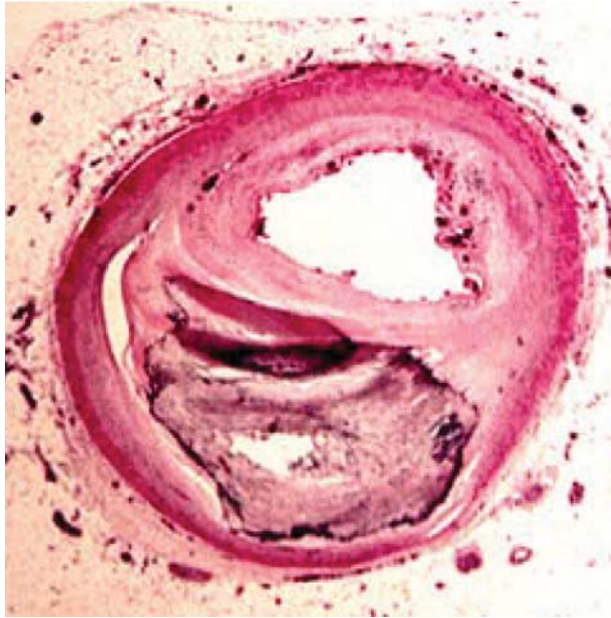
elena.bravo@iss.it

Le malattie cardiovascolari, ossia tutte quelle patologie a carico del cuore e dei vasi sanguigni periferici quali cardiopatia ischemica, cardiomiopatie e malattie cerebrovascolari, rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nei Paesi Occidentali (1). In Europa esse sono responsabili del 44% di tutti i decessi. In Italia, come emerge dal Registro nazionale degli eventi coronarici e cerebrovascolari, la cardiopatia ischemica rappresenta la prima causa di morte, rendendo conto del 28% di tutte le morti, mentre le malattie cerebrovascolari sono al terzo posto dopo i tumori.

Queste malattie modificano la qualità della vita e comportano notevoli costi economici per la società e il sistema sanitario. Chi sopravvive a un attacco cardiaco diventa un malato cronico e si stima che in Italia la

prevalenza di cittadini affetti da invalidità cardiovascolare è pari al 4,4 per mille e circa il 23,5% della spesa farmaceutica nazionale è destinata a farmaci per il sistema cardiovascolare.

La principale causa delle malattie cardiovascolari è rappresentata dall'arteriosclerosi. L'arteriosclerosi origina da una disfunzione endoteliale, che favorisce l'adesione e la migrazione dei monociti circolanti nell'intima vasale e prosegue con il formarsi della stria lipidica, che costituisce lo stadio precoce, visibile e reversibile della lesione vascolare. La stria lipidica si forma quando il colesterolo e gli altri lipidi, trasportati dalle lipoproteine circolanti, si depositano nei macrofagi tissutali derivati dal differenziamento dei monociti migrati dal circolo. A causa dell'accumulo lipidico, il ►



Sezione di aorta parzialmente occlusa dall'ateroma

macrofago si trasforma in *foam cell* (cellula schiumosa). È noto che le Low Density Lipoprotein (LDL) giocano un ruolo chiave in questi processi, ma la modificazione della lipoproteina, e in particolare la sua ossidazione è necessaria per rendere le LDL aterogene (2).

La trasformazione della stria lipidica in placca fibrosa porta alla formazione dell'ateroma, una complessa eterogenea lesione vasale composta da ammassi di lipidi e cellule muscolari lisce, commiste a tessuto fibroso e necrotico e sede di complessi processi infiammatori. L'ateroma, occludendo il lume vasale, diminuisce l'irrorazione dei tessuti e favorisce lo sviluppo di ischemie, sia a livello periferico sia a livello cardiaco. Poiché l'induzione dell'accumulo di lipidi nel macrofago costituisce un evento precoce, e potenzialmente reversibile, nello sviluppo dell'arteriosclerosi, questo stadio della malattia è stato indicato come un potenziale target molecolare per interventi preventivi e terapeutici volti a combattere le malattie cardiovascolari.

Da anni l'attività del gruppo di lavoro presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS, Reparto Lipidi ed Arteriosclerosi, Dipartimento di Ematologia e Oncologia Molecolare) ha focalizzato la propria attività sulla delucidazione dei meccanismi di formazione delle *foam cell* da parte delle lipoproteine aterogene e, in particolare, sui meccanismi patogenetici dei *remnant* alimentari. Infatti, la dieta e lo stile di vita sono fattori importanti nello sviluppo dell'aterosclerosi, e numerose evidenze

epidemiologiche indicano un minore rischio per le popolazioni che adottano stili di vita che includono una regolare attività fisica e regimi alimentari a basso contenuto di acidi grassi saturi (SFA), ricchi in acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA), quali, ad esempio, la dieta mediterranea che è ricca sia in MUFA (olio di oliva) che in PUFA (pesce).

Aterosclerosi come fenomeno postprandiale

Per decenni le implicazioni patologiche e la potenziale aterogenità delle lipoproteine postprandiali sono state trascurate, in quanto la ricerca scientifica ha focalizzato grande attenzione sul colesterolo LDL che, nell'opinione corrente più accreditata, rappresenta il principale fattore di rischio di malattia cardiovascolare. Tuttavia, in molti casi accertati l'aterosclerosi non si associa a elevati livelli di colesterolo LDL e dati di tipo epidemiologico, clinico e sperimentale suggeriscono che l'aterosclerosi sia fortemente associata al metabolismo postprandiale (3, 4).

I lipidi alimentari e le molecole liposolubili della dieta sono assorbiti dall'intestino e secreti nella linfa come chilomicroni, grandi lipoproteine ricche in trigliceridi e caratterizzate dalla presenza di apolipoproteina-B48. I chilomicroni in circolo subiscono una serie di modificazioni della composizione apolipoproteica, e soprattutto del loro contenuto di trigliceridi, che viene diminuito dalla idrolisi enzimatica della lipoprotein lipasi, e sono ridotti a *remnant* dei chilomicroni, lipoproteine più piccole che trasportano gran parte dei trigliceridi alimentari e tutto il colesterolo intestinale al fegato (Figura 1).

L'interesse per l'aterosclerosi quale fenomeno postprandiale assume una rilevanza notevole nella nostra società, tenuto conto delle abitudini alimentari. Infatti, la gran parte della popolazione occidentalizzata consuma tre o addirittura più pasti al giorno, con un contenuto medio di grassi compreso tra i 20 e i 70 g e, a eccezione della prima colazione, ogni pasto viene in genere consumato prima che i livelli plasmatici di trigliceridi ritornino ai valori di digiuno. Dopo un pasto la trigliceridemia aumenta per 3-4 ore dalla sua assunzione, per poi ritornare lentamente ai valori basali dopo 6-8 ore, laddove venga rispettata la condizione di digiuno. Ciò significa che l'uomo trascorre gran parte della giornata in fase postprandiale (5).

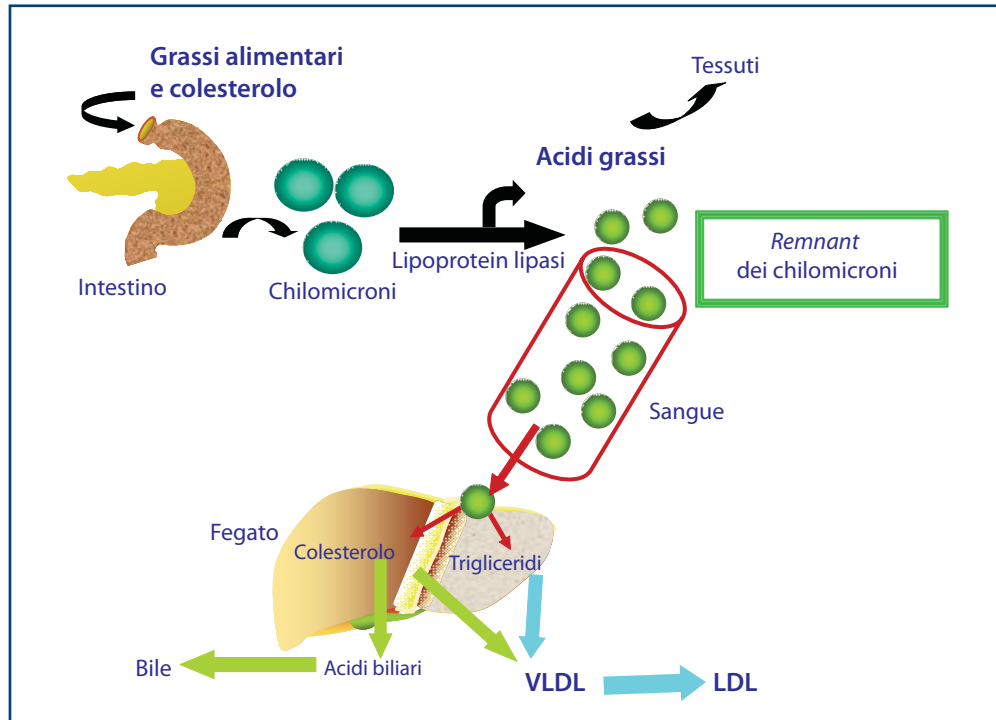


Figura 1 - Metabolismo dei lipidi alimentari

Il principale lipide accumulato a livello delle arterie è il colesterolo e questo ha costituito per lungo tempo un'obiezione al concetto del ruolo aterogenico dei *remnant* dei chilomicroni. Tuttavia, sono innumerevoli gli studi che individuano la trigliceridemia quale fattore di rischio aterogenico, e mostrano come gli acidi grassi liberati dai trigliceridi possano svolgere un ruolo pro-infiammatorio a livello vasale. Inoltre, già nel 1995, Zilversmit riportava l'evidenza sperimentale su modelli animali che il colesterolo esterificato dei *remnant* dei chilomicroni si accumula nell'intima dell'aorta (6). Calcoli accurati, che tengono conto delle abitudini alimentari dei Paesi occidentali e di quelli in via di sviluppo, indicano che i *remnant* dei chilomicroni trasportano, in assoluto e ogni giorno, quantità maggiori di colesterolo di quelle veicolate dalle LDL e, pertanto, anche modeste variazioni dei livelli di *remnant* circolanti possono avere effetti patologici marcati (3, 5, 7). Inoltre, ulteriori evidenze indicano che il colesterolo e i trigliceridi dei *remnant* dei chilomicroni costituiscono i due fattori distinti e indipendenti di rischio per l'aterosclerosi (8, 9).

È interessante notare che gli interventi epidemiologici preventivi per la diminuzione del rischio aterogenico, quali un regime alimentare ricco di

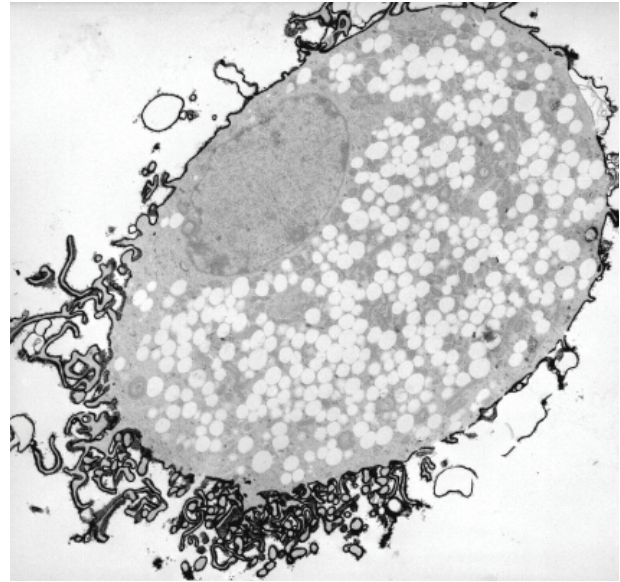
frutta e verdure e povero di grassi saturi e calorie, coadiuvati da una regolare attività fisica e dalla riduzione del peso corporeo, sono stati spesso sviluppati su base empirica e senza una comprensione chiara dei meccanismi sottesi. L'accettazione del concetto che la fase postprandiale ha un ruolo determinante nello sviluppo dell'arteriosclerosi, fornisce un ampio spettro di ipotesi razionali, che associano la prevenzione dell'arteriosclerosi allo stile di vita e la dislipidemia postprandiale allo sviluppo delle coronaropatie e delle lesioni carotidee.

Aterogenicità dei *remnant* dei chilomicroni

Una delle principali ragioni, che ha ostacolato per lungo tempo l'accettazione del ruolo aterogenico dei *remnant* dei chilomicroni, era la convinzione che tali lipoproteine fossero troppo grandi per penetrare la parete vasale. Tuttavia, studi di Mamo e colleghi (10) hanno definitivamente dimostrato che i *remnant* postprandiali penetrano e sono trattenuti nello spazio sub-endoteliale dei vasi con la stessa efficienza delle LDL. Inoltre, lipoproteine simili ai *remnant* dei chilomicroni sono state isolate dalle lesioni atero- ►

sclerotiche umane e modelli sperimentali, quali ad esempio topi knockout apoE^{-/-}, che sono caratterizzati da accumulo di *remnant* circolanti, si associano allo sviluppo precoce dei processi aterosclerotici (4, 11). Anche studi epidemiologici e clinici sull'uomo mostrano che le patologie caratterizzate da un ritardo della rimozione dal circolo dei *remnant* dei chilomicroni sono associate a un aumento del rischio aterogenico. In Tabella sono riportate le principali e più comuni dislipidemie primarie e secondarie caratterizzate da un aumento dei livelli circolanti di chilomicroni e/o dei loro *remnant*. Le dislipidemie associate ad accumulo di chilomicroni hanno un incremento di rischio variabile e comunque basso, mentre per i pazienti affetti da dislipidemie secondarie più frequenti, quali quelle associate al diabete, all'obesità o all'insufficienza renale cronica, caratterizzate da un ritardo nella *clearance* di *remnant* dei chilomicroni, l'arteriosclerosi e le malattie cardiovascolari rappresentano la principale causa di morte.

L'aterogenicità dei *remnant* dei chilomicroni è dipendente dal tempo con cui questi interagiscono con le parete dei vasi (4) e quindi dal tempo di permanenza in circolo. Il tempo di permanenza in circolo dei *remnant* alimentari è regolato da molti fattori e, in particolare, è dipendente dalla velocità di idrolisi lipidica dei chilomicroni. Ad esempio, il grado di insaturazione dei grassi alimentari modula la velocità di rimozione epatica dei *remnant* dei chilomicroni (12). Inoltre, i *remnant* più piccoli sono rimossi più velocemente poiché la superficie di interazione della lipoprotein lipasi con il substrato trigliceride è aumentata. Anche l'arrangiamento sterico degli acidi grassi in posizione 2 dei trigliceridi modula la lipolisi delle particelle. Così un pasto povero in



Micrografia elettronica di un macrofago che, a causa dell'accumulo di lipidi, si è trasformato in *foam cell*

contenuto lipidico e grassi saturi, contenenti principalmente MUFA, favorisce l'idrolisi dei trigliceridi dei *remnant* alimentari. La presenza di acidi grassi trans nella dieta, che derivano dall'idrogenazione naturale (rumine animale) o industriale degli acidi grassi, ostacola l'idrolisi enzimatica e spiega l'aumento dell'incidenza di malattia cardiovascolare associato al consumo di acidi grassi trans. Inoltre, i meccanismi lipolitici dei *remnant* dei chilomicroni sono analoghi a quelli delle Very Low Density Lipoprotein (VLDL), e i recettori responsabili per la captazione tissutale sono gli stessi delle VLDL e, in minor misura, delle LDL. Pertanto la *clearance* dei *remnant* alimentari è in competizione con quella delle lipoproteine endogene e tale competizione ral-

Tabella - Dislipidemie associate con accumulo di chilomicroni (CM) e *remnant* dei chilomicroni (CR) nel sangue (4)

Dislipidemie primarie			Dislipidemie secondarie		
Malattia	Accumulo	Aterogenico	Malattia	Accumulo	Aterogenico
Iperlipoproteinemia Tipo I (chilomicronemia familiare)	CM	no	Diabete mellito	CR	sì
Iperlipoproteinemia Tipo III (disbetalipoproteinemia familiare)	CR	sì	Obesità	CR	sì
Iperlipoproteinemia Tipo IV (ipertrigliceridemia familiare endogena)	CM	qualche volta	Insufficienza renale cronica	CM, CR	sì
Iperlipoproteinemia Tipo V (ipertrigliceridemia familiare mista)	CM, CR	no	Ipotiroidismo	CR	sì

lenta la rimozione dei *remnant* dei chilomicroni in quelle patologie, quali il diabete e l'obesità, in cui è aumentata la produzione di VLDL (7).

Livelli più elevati di *remnant* dei chilomicroni circolanti inducono una serie di modificazioni che hanno anche grande importanza nelle fasi precoci dello sviluppo della lesione aterosclerotica. Essi, infatti, possono causare disfunzione vasale inibendo il rilassamento dipendente dall'endotelio e indurre la formazione delle *foam cell* (4). Lavori del gruppo ISS hanno dimostrato che macrofagi murini incubati con *remnant* dei chilomicroni di ratto accumulano massicce quantità di trigliceridi, causate dalla stimolazione dell'esterificazione degli acidi grassi in trigliceridi (13). Esperimenti effettuati con macrofagi umani, sia primari (Human Monocyte-Derived Macrophage - HMDM) sia linee cellulari (THP-1), hanno confermato che i *remnant* alimentari inducono la formazione di *foam cell* e che il contenuto

lipidico in macrofagi incubati con i *remnant* dei chilomicroni è comparabile a quello indotto dalle LDL ossidate (14).

La Figura 2 riporta l'accumulo di trigliceridi e di colesterolo indotto dalle Chylomicron-Remnant Like Particles (CRLP), un modello artificiale di *remnant* dei chilomicroni, e dalle LDL, nelle THP-1. Entrambe le lipoproteine sono testate sia allo stato nativo sia ossidato. La comparazione delle quantità di lipide cellulare illustra l'aspetto più interessante e peculiare della patogenicità dei *remnant* dei chilomicroni: a differenza delle LDL, queste lipoproteine non richiedono una preliminare modificazione od ossidazione per svolgere un'azione aterogenica (13, 14). Inoltre, è stato dimostrato che la presenza di lipidi ossidati nei *remnant* alimentari, che potrebbero derivare dalla cottura dei cibi e/o dalla conservazione, non ne modifica la capacità di indurre accumulo lipidico (15). Pertanto, i ►

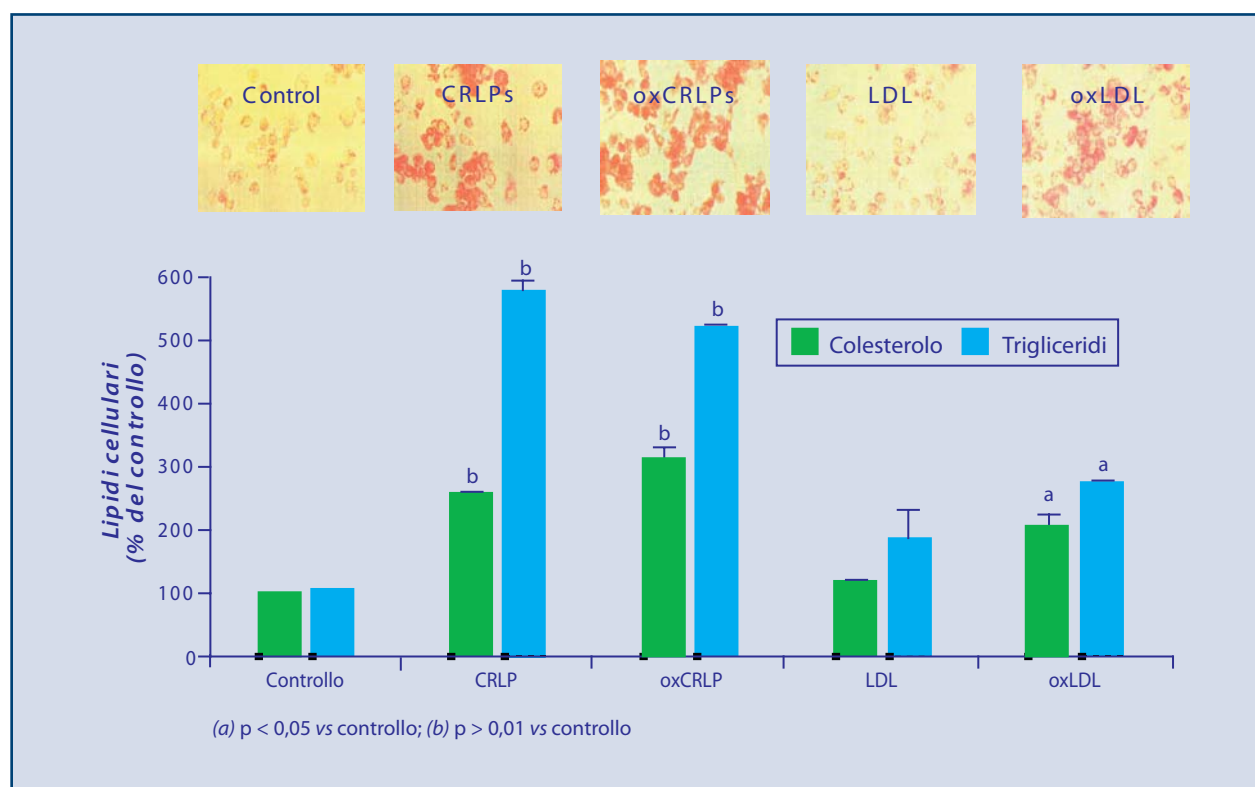


Figura 2 - Accumulo lipidico nei macrofagi: confronto tra LDL e *remnant* dei chilomicroni. Macrofagi THP-1 sono stati incubati per 48 ore senza (controllo) o con 30 µg colesterolo/ml trasportati da Chylomicron-Remnant Like Particles (CRLP) in forma nativa o ossidata (oxCRLP) e con Low Density Lipoprotein nativa (LDL) e LDL ossidata (oxLDL). Al termine dell'incubazione, l'accumulo lipidico è stato valutato sia mediante colorazione specifica per i lipidi (Oil red O), seguita da osservazione al microscopio ottico (x40) (pannello superiore), sia mediante dosaggio fluorimetrico del trigliceride e colesterolo cellulare (pannello inferiore) (4)

recettori scavenger, che sono uno dei principali meccanismi che mediano la formazione delle *foam cell* da parte delle LDL (2), non sembrano coinvolti nei processi aterogenici innescati dai *remnant* dei chilomicroni (3, 4, 16).

Conclusioni

Vi è finalmente un ampio consenso sul concetto che molte disfunzioni vasali e l'accumulo dei lipidi che modulano lo sviluppo dell'arteriosclerosi sono attribuibili a disordini del metabolismo postprandiale.

I lipidi alimentari, veicolati dai *remnant* dei chilomicroni, influenzano lo sviluppo del processo aterogenico durante il loro trasporto dall'intestino al fegato e una prolungata permanenza in circolo costituisce un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di aterosclerosi. Accettare il paradigma dell'aterogenicità dei *remnant* dei chilomicroni apre la via a interventi più razionali per la prevenzione e la riduzione del rischio cardiovascolare, e individua un'area della ricerca di base su cui focalizzare l'attenzione nel prossimo futuro. Studi di fisiopatologia indicano che la rimozione epatica dei chilomicroni può essere migliorata adottando stili di vita che, mediante il consumo di pasti leggeri, specie nei periodi di ridotta attività fisica, accelerino la rimozione dei chilomicroni dal circolo favorendo la produzione di *remnant* di chilomicroni di piccole dimensioni e aventi una composizione in acidi grassi ottimale per l'attività della lipoprotein lipasi.

La prossima frontiera della ricerca dovrà essere, pertanto, lo sviluppo di presidi terapeutici volti a ridurre l'accumulo dei *remnant* dal circolo, specie in pazienti obesi o affetti da diabete tipo 2 e malattia renale. Sarà poi compito della medicina traslazionale trasformare questa ricerca in interventi prospettici di lunga durata nell'uomo. ■

Riferimenti bibliografici

1. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, *et al.* Global burden of cardiovascular diseases. *Circulation* 2001;104:2746-53.
2. Albertini R, Moratti R, De Luca G. Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med* 2002;2:579-92.
3. Yu KC, Cooper AD. Postprandial lipoproteins and atherosclerosis. *Front Biosci* 2001;6:D332-54.
4. Botham KM, Bravo E, Elliott J, *et al.* Direct interaction of dietary lipids carried in chylomicron remnants with cells of the artery wall: implications for atherosclerosis development. *Curr Pharm Des* 2005;11:3681-95.
5. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nut* 2007;98:458-73.
6. Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem* 1995;41:153-8.
7. Redgrave TG. Chylomicrons in disease-future challenges Invited keynote address. *Atheroscler Suppl* 2008;9:3-6.
8. Napolitano M, Bravo E. Evidence of dual pathways for lipid uptake during chylomicron remnant-like particle processing by human macrophages. *J Vasc Res* 2006;43:355-66.
9. McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, *et al.* Remnant-like particle (RLP) cholesterol is an independent cardiovascular disease risk factor in women: results from the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 2001;154:229-36.
10. Proctor SD, Vine DF, Mamo JCL. Arterial retention of apolipoprotein B48- and B100-containing lipoproteins in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:461-70.
11. Borén J, Gustafsson M, Skålén K, *et al.* Role of extracellular retention of low density lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:451-6.
12. Bravo E, Ortu G, Cantafora A, *et al.* Comparison of the hepatic uptake and processing of cholesterol from chylomicrons of different fatty acid composition in the rat *in vivo*. *Biochim Biophys Acta* 1995;1258:328-36.
13. Napolitano M, Avella M, Botham KM, *et al.* Chylomicron remnant induction of lipid accumulation in J774 macrophages is associated with up-regulation of triacylglycerol synthesis which is not dependent on oxidation of the particles. *Biochim Biophys Acta* 2003;1631:255-64.
14. Batt KV, Avella M, Moore EH, *et al.* Differential effects of low density lipoprotein and chylomicron remnants on lipid accumulation in human macrophages. *Exp Biol Med* 2004;229:528-37.
15. Napolitano M, Bravo E. Lipid metabolism and TNF-alpha secretion in response to dietary sterols in human monocyte derived macrophages. *Eur J Clin Invest* 2005;35:482-90.
16. Bravo E, Napolitano M. Mechanisms involved in chylomicron remnant lipid uptake by macrophages. *Biochem Soc Trans* 2007;35:459-63.