

# Nuovi approcci terapeutici: prospettive presenti e future

**Prof. RENATO FELLIN**

Medicina Interna II,  
Università degli Studi di Ferrara

## Introduzione

Secondo i dati recentemente pubblicati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità le malattie cardiovascolari, ed in particolare l'ischemia del miocardio, rappresentano la causa principale di morbidità in tutto il mondo, con un contributo rilevante da parte delle aree in via di sviluppo.

Nel corso degli ultimi decenni è stato meglio definito il ruolo causale dell'ipercolesterolemia nella patogenesi delle lesioni aterosclerotiche e delle loro manifestazioni cliniche, in particolare la cardiopatia ischemica. Questi substrati fisiopatologici hanno reso possibile lo sviluppo di numerosi studi clinici mirati a verificare l'ipotesi che la riduzione della colesterolemia potesse condurre ad una riduzione della morbidità e della mortalità per cause cardiovascolari. La maggioranza di tali studi ha, infatti, dimostrato una riduzione di eventi cardiovascolari consensuali alla riduzione dei valori di colesterolo plasmatico, anche se i meccanismi che sottendono i benefici evidenziati non sono del tutto chiari.

La correlazione tra livelli plasmatici di colesterolo LDL e rischio cardiovascolare è stata dimostrata in modo inequivocabile sia da studi osservazionali che da studi di intervento.

Questi ultimi, documentando l'esistenza di un rapporto dose-risposta tra riduzione della colesterolemia e riduzione del rischio cardiovascolare, hanno permesso di identificare la coleste-

rolemia LDL come fattore causale dell'aterosclerosi.

Gli inibitori dell'enzima idrossimetil-glutaril-coenzima A reductasi, comunemente chiamati statine, rappresentano al giorno d'oggi i mezzi farmacologici più efficaci per ridurre selettivamente la colesterolemia LDL, permettendo di ottenere una significativa riduzione degli eventi. Tali farmaci inducono, inoltre, un miglioramento generale del profilo lipidico riducendo i trigliceridi ed aumentando, con vari livelli d'efficacia, il colesterolo legato alle HDL. Fatte queste premesse appare evidente che, nonostante l'indubbia efficacia delle statine attualmente in uso, lo sviluppo di nuove molecole, più attive nel ridurre la colesterolemia e con un profilo di sicurezza sovrapponibile o migliore, possa ampliare il ventaglio di strumenti terapeutici a disposizione del medico per il controllo farmacologico dell'aterosclerosi.

## Studi epidemiologici

Lo studio di Framingham, condotto nell'omonima cittadina statunitense, vicino a Boston, iniziò, negli anni '50, la raccolta di informazioni sullo stile di vita, le caratteristiche antropometriche ed alcuni parametri di biochimica plasmatica (tra cui appunto la colesterolemia totale) di un vasto campione della popolazione (5.000 soggetti su un totale di 20.000) degli abitanti della cittadina.

L'obiettivo, tipico di uno studio prospettico di coorte, era di rilevare nel tempo l'incidenza (e cioè i nuovi casi) di eventi coronarici o più in generale cardiovascolari, e di correlare tale dato con le caratteristiche, già note ai ricercatori, dei soggetti colpiti o non colpiti da tali eventi. Lo studio dei Sette Paesi ("Seven Countries Study") cercò invece di identificare una correlazione tra il consumo di alcune componenti dell'alimentazione delle popolazioni delle nazioni considerate e l'incidenza di eventi coronarici nelle stesse popolazioni.

Sia lo studio di Framingham che il Seven Countries Study hanno modificato grandemente la nostra conoscenza della relazione tra colesterolemia e malattia coronarica.

Lo studio di Framingham, infatti, mostrò chiaramente che i soggetti con valori basali della colesterolemia totale superiori a 220-240 mg/dL sviluppavano, nel tempo, eventi cardiovascolari sia fatali che non fatali con frequenza maggiore rispetto a soggetti con analoghe caratteristiche ma con valori basali più bassi di colesterolemia. Esso indicò anche che i soggetti portatori, oltre all'ipercolesterolemia, di altre "condizioni", quali fumo di sigaretta, ipertensione arteriosa e diabete mellito, incorrevano in eventi clinici legati alla malattia coronarica stessa con frequenza superiore a quella che si osservava nei soggetti solamente ipercolesterolemici.

Queste osservazioni condussero alla formulazione ed alla strutturazione del concetto di "fattore di rischio" coronarico, ed all'osservazione che i fattori di rischio stessi, quando coesistono in un soggetto, potenziano progressivamente e reciprocamente il proprio potere di predire le manifestazioni cliniche della malattia coronarica.

Il Seven Countries Study perfezionò il concetto, desunto dallo studio di Framingham, della relazione tra colesterolemia e malattia coronarica, documentando anche l'esistenza di una serie di correlazioni tra l'alimentazione ed il valore della colesterolemia plasmatica.

Tra gli studi osservazionali condotti nei paesi anglosassoni va ancora menzionato il cosiddetto MRFIT, che verso la metà degli anni '80 mostrò come, in una coorte di proporzioni molto ampie

(circa 360.000 soggetti), sussistesse una correlazione continua e crescente, praticamente senza "livello soglia", tra il valore della colesterolemia totale ed il rischio di malattia coronarica.

Questa osservazione generò il concetto, tuttora accettabile a livello di popolazione, del "tanto più basso, tanto meglio" (*the lower the better*), a proposito della colesterolemia e del corrispondente rischio coronarico. Lo studio MRFIT consentì, peraltro, come già il Framingham, di documentare quantitativamente l'importanza della multifattorialità della malattia coronarica. A parità di valori della colesterolemia, infatti, si osservò ancora una volta come la presenza concomitante di altri fattori di rischio coronarico quali il fumo o l'ipertensione, aumentasse grandemente le probabilità di sviluppare malattia coronarica nel tempo.

Altro studio osservazionale di grande importanza è il *Munster Heart Study (PROCAM)*, che ha valutato la prevalenza di patologia cardiovascolare in circa 25.000 soggetti in relazione ad età, valori di pressione arteriosa, indice di massa corporea, fumo di sigaretta, presenza di diabete mellito, familiarità per cardiopatia ischemica e più di 20 parametri laboratoristici, (Col. totale, Col. HDL, trigliceridemia, Col. LDL, rapporto Col. LDL/ Col. HDL, Lp(a), fibrinogeno ecc.), permettendo di elaborare una "carta del rischio" che prendesse in considerazione tutte le suddette variabili, per ogni decade di età.

### Principali studi epidemiologici

<i>Framingham</i> Circa 5.000 soggetti	Soggetti con colesterolemia basale > 220-240 mg/dL sviluppavano, nel tempo, eventi cardiovascolari più frequentemente rispetto a coloro che avevano livelli di colesterolo più bassi, a parità di altre condizioni. La presenza di altre "condizioni" (fumo di sigaretta, ipertensione arteriosa, diabete mellito) aumentava ulteriormente il rischio.
<i>Seven Countries</i> Circa 13.000 soggetti	Vengono confermati i risultati dello studio Framingham; si puntualizza il concetto di "fattore di rischio cardiovascolare". Si mettono in relazione colesterolemia e abitudini alimentari (la cosiddetta dieta mediterranea sembra essere un fattore di protezione nei confronti delle malattie cardiovascolari)
<i>MRFIT</i> Circa 360.000 soggetti	Viene evidenziata una correlazione continua fra colesterolemia plasmatica e rischio di malattia cardiovascolare, cioè l'assenza di un valore soglia di colesterolo sotto cui il rischio non si riduce ulteriormente.
<i>PROCAM</i> Circa 25.000 soggetti	Ha permesso la formulazione di una "carta del rischio", basata su di un ampio numero di fattori. L'aterosclerosi è una malattia multifattoriale. ogni fattore contribuisce al rischio cardiovascolare globale.

## Gli studi con statine

Negli anni '90 si è assistito ad un'esplosione di studi clinici sul ruolo dell'ipercolesterolemia nella gestione di pazienti affetti da cardiopatia ischemica o ad elevato rischio per malattie coronariche.

Fra questi bisogna senza dubbio ricordare lo studio 4S, il cui obiettivo è stato quello di valutare il beneficio di interventi farmacologici atti a ridurre i valori di colesterolemia in pazienti affetti da cardiopatia ischemica con elevati valori di colesterolo plasmatico; 4444 pazienti con angina o storia di pregresso infarto del miocardio sono stati assegnati ad assumere una statina (simvastatina) o placebo, con un follow-up medio di 5,4 anni.

Nel gruppo trattato con farmaco attivo si è assistito ad una riduzione del 25% del colesterolo totale e del 35% del colesterolo LDL; il trattamento con simvastatina ha, inoltre, ridotto gli eventi coronarici (morte per cause coronariche, infarto del miocardio; RR = 0,66), la morte per cause coronariche (RR = 0,58) e la mortalità totale (RR = 0,70). Inoltre la terapia ha ridotto la necessità di interventi di rivascolarizzazione coronarica mediante by-pass o angioplastica coronarica (RR = 0,63).

Questo studio ha chiaramente stabilito l'importanza della terapia ipolipemizzante in pazienti affetti da cardiopatia ischemica ed elevati valori di colesterolemia nel ridurre morbilità e mortalità risultando, inoltre, sicura a fronte di una pari mortalità per cause non cardiovascolari nei pazienti trattati ed in quelli non trattati.

Lo studio successivo dal punto di vista cronologico è stato lo studio WOSCOPS, che ha indagato il ruolo della terapia ipolipemizzante in soggetti ipercolesterolemici senza una storia clinica di malattia cardiovascolare; sono stati arruolati 6.595 soggetti di età compresa fra 45 e 64 anni e casualmente assegnati ad assumere pravastatina (40 mg/die) o placebo, con un follow-up medio di 4,9 anni. Nel gruppo trattato con farmaco attivo si è assistito ad una riduzione del 20% del colesterolo totale e del 26% del colesterolo LDL.

Sebbene sia stato uno studio di "prevenzione primaria" (ovvero atto a prevenire un primo evento

cardiovascolare), i soggetti arruolati presentavano un rischio elevato di eventi cardiovascolari, con colesterolemia totale media di 270 mg/dL, indice di massa corporea elevato ( $26 + 3,1 \text{ kg/m}^2$ ) e più di un terzo fumava.

La terapia con pravastatina ha ridotto gli eventi coronarici del 31%, le procedure di rivascolarizzazione del 37% e la mortalità per cause cardiovascolari del 32%; non si è assistito a modificazioni significative della mortalità per cause non cardiovascolari e la riduzione della mortalità totale (22%) si è posizionata ai limiti della significatività statistica. I dati dello studio, ed in particolare l'importante riduzione degli eventi avversi cardiovascolari, indicano che pazienti ipercolesterolemici ad elevato rischio cardiovascolare e senza una storia clinica di cardiopatia ischemica possono trarre grandi benefici dalla terapia ipolipemizzante.

Nel corso dell'anno successivo è stato pubblicato lo studio CARE (Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators), condotto su 4159 soggetti con storia di infarto del miocardio (quindi in "prevenzione secondaria") e livelli medi di colesterolemia totale di 200 mg/dL circa, assegnati ad un trattamento con pravastatina o placebo.

Nel gruppo trattato con farmaco attivo si è assistito ad una riduzione del 20% della colesterolemia totale e del 28% del colesterolo LDL; inoltre la terapia con pravastatina ha ridotto l'end point primario (morte coronarica e infarto del miocardio non fatale) del 24%.

In questo studio non è stata riscontrata una differenza significativa fra mortalità totale, mortalità cardiovascolare e mortalità non cardiovascolare fra i soggetti trattati e quelli non trattati; al contrario, il numero di infarti del miocardio non fatali è stato grandemente ridotto dalla terapia farmacologica, così come le manovre di rivascolarizzazione ed i casi di ischemia cerebrale.

I dati raccolti sembrano indicare, quindi, che i pazienti in prevenzione secondaria beneficiano della terapia con statina anche in presenza di valori 'border-line' di colesterolemia, probabilmente perché non esiste un 'valore soglia' di colesterolemia nella determinazione del rischio cardiovascolare.

Tuttavia la mancata diminuzione di mortalità coronarica nel gruppo trattato e la riduzione, percentualmente minore nello studio CARE rispetto al 4S, della mortalità coronarica suggeriscono che sono i soggetti ad elevato rischio e con valori 'elevati' di colesterolo a trarre maggior beneficio dalla terapia.

L'impatto storico di questi tre ultimi studi è stato considerevole, soprattutto se essi vengono paragonati alla letteratura scientifica in materia delle due decadi precedenti, nel corso delle quali con i farmaci ipolipemizzanti disponibili la riduzione media della colesterolemia si assestava intorno al 10%, contro il 20-30% di quanto ottenibile con le statine. Non bisogna dimenticare, però, l'importanza della terapia dietetica e dello stile di vita, entrambi passo iniziale e inevitabile nella gestione del paziente ad elevato rischio cardiovascolare con fattori di rischio multipli, sia in prevenzione primaria che secondaria; tuttavia, modificazioni delle abitudini alimentari e dello stile di vita sono difficili da introdurre e mantenere già nel singolo individuo, e maggiormente nell'ambito di intere popolazioni, tanto da indurre le ultime linee guida per la gestione del paziente ad elevato rischio ad enfatizzare maggiormente la terapia farmacologica (esistono grandi quantità di dati sulla sicurezza delle statine) rispetto a quella dietetica.

Nei tardi anni '90 lo studio LIPID (Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease) ha enfatizzato l'importanza della terapia ipolipemizzante nella prevenzione secondaria; 9014 pazienti con storia di infarto del miocardio e angina instabile, con colesterolemia totale al base-line compresa fra 154 mg/dL e 270 mg/dL, sono stati assegnati ad assumere pravastatina o placebo, e seguiti per un tempo medio di 6,1 anni.

La mortalità coronarica è risultata ridotta del 24% nel gruppo in terapia con farmaco attivo; la mortalità totale è risultata ridotta del 22%; si è inoltre assistito ad una significativa riduzione degli eventi coronarici maggiori (morte coronarica ed infarto non fatale) del 24%, interventi di rivascolarizzazione del 20% ed eventi ischemici cerebrali del 19%.

Nello stesso anno sono stati pubblicati i risultati dello studio AFCAPS/TexCAPS (Primary pre-

vention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels), in cui sono stati valutati gli effetti di una terapia ipolipemizzante con lovastatina su una popolazione con rischio cardiovascolare medio e colesterolemia media di 220 mg/dL. 5.608 uomini e 997 donne sono stati randomizzati all'assunzione del farmaco attivo o del placebo; dopo un periodo di osservazione medio di 5,2 anni, gli eventi coronarici maggiori (infarto del miocardio, angina instabile, morte improvvisa) sono risultati significativamente ridotti nel gruppo trattato (RR = 0,63).

Sebbene non siano stati registrati effetti avversi nel gruppo trattato con statina, la mortalità totale nei due gruppi è risultata sovrapponibile, e più dei 2/3 delle morti totali è stato imputato a cause non cardiovascolari.

Tutti questi dati supportano l'evidenza che la selezione di pazienti ad elevato rischio cardiovascolare in prevenzione primaria può condurre a migliori risultati e contribuire al contenimento dei costi.

Numerosi altri studi di intervento hanno dimostrato una chiara riduzione del rischio cardiovascolare in pazienti trattati con statine. Il Lescol Intervention Prevention Study (LIPS), condotto con fluvastatina 80 mg/die in pazienti sottoposti ad angioplastica coronarica, ha dimostrato una riduzione degli eventi cardiovascolari del 22%. Lo studio PROSPER (Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk) ha evidenziato una riduzione del 24% della mortalità per coronaropatia in soggetti anziani trattati con pravastatina, rispetto al placebo.

Lo studio ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial) è stato sospeso prima del termine prefissato a causa degli evidenti benefici, in termini di eventi cardiovascolari, riportati nel gruppo in trattamento con atorvastatina.

Al giorno d'oggi lo studio di intervento con statine che possa vantare la maggiore numerosità di soggetti trattati è il MRC/BHF Heart Protection Study (HPS); da questo studio è risultato evidente che tutti i gruppi di pazienti, compresi quelli con livelli di colesterolo plasmatico normali o bassi, hanno tratto beneficio in termini di diminuzione della mortalità per cause cardiovascolari dal trattamento con simvastatina.

## Principali studi di intervento con statine

4S	Prevenzione secondaria 4.444 soggetti con storia di cardiopatia ischemica	Simvastatina vs placebo	Riduzione del 25% del Col. totale e del 35% del Col. LDL; riduzione di eventi coronarici (morte per cause coronariche, infarto del miocardio; RR = 0,66), morte per cause coronariche (RR = 0,58) e mortalità totale (RR = 0,70). Riduzione della necessità di interventi di rivascolarizzazione coronarica (RR = 0,63)
WOSCOPS	Prevenzione primaria 6.595 soggetti ad elevato rischio cardiovascolare	Pravastatina vs placebo	Riduzione del 20% del Col. totale e del 26% del Col. LDL. Riduzione degli eventi coronarici del 31%, delle procedure di rivascolarizzazione del 37% e della mortalità per cause cardiovascolari del 32%
CARE	Prevenzione secondaria 4.159 soggetti	Pravastatina vs placebo	Riduzione del 20% del Col. totale e del 28% del Col. LDL. Riduzione dell'end point primario (morte coronarica e infarto del miocardio non fatale) del 24%
LIPID	Prevenzione secondaria 9.014 pazienti	Pravastatina vs placebo	Riduzione della mortalità coronarica del 24%. Riduzione della mortalità totale del 22%. Riduzione degli eventi coronarici maggiori (morte coronarica ed infarto non fatale) del 24%, degli interventi di rivascolarizzazione del 20% ed degli eventi ischemici cerebrali del 19%
AFCAPS/ TexCAPS	Prevenzione primaria Circa 6.500 soggetti	Lovastatina vs placebo	Riduzione significativa (RR=0,63) degli eventi coronarici maggiori (infarto del miocardio, angina instabile, morte improvvisa)
LIPS	Prevenzione secondaria 1.667 soggetti	Fluvastatina vs placebo	Riduzione degli eventi cardiovascolari del 22%
PROSPER	Misto 5.804 soggetti di età compresa fra 70 ed 82 anni	Pravastatina vs placebo	Riduzione del 24% della mortalità per eventi coronarici
ASCOT	Prevenzione primaria 10.305 soggetti ipertesi con almeno altri 3 fattori di rischio	Atorvastatina vs placebo	Lo studio è stato interrotto dopo 3,3 anni a causa della elevata riduzione di eventi cardiovascolari nel gruppo trattato
HPS	Misto 20.563 soggetti con storia di arteriopatia o ad elevato rischio cardiovascolare	Simvastatina vs placebo	Riduzione del 13% (p=0,0003) della mortalità per tutte le cause, riduzione del 24% degli eventi vascolari maggiori, riduzione delle morti coronariche del 18%, riduzione degli ictus fatali o non fatali del 25% e riduzione degli interventi di rivascolarizzazione del 24%. Relazione fra Col.LDL e rischio cardiovascolare fino a valori di 70 mg/dL (si è assistito ad una riduzione del RR fino a tali valori di Col.LDL)

## Fibrati

Altra importante classe di farmaci ipolipemizzanti è quella dei fibrati (di cui il principale è il fenofibrato). Sono tutti derivati dell'acido fenossico e risultano particolarmente efficaci nel ridurre i livelli di trigliceridi, mentre l'azione sul colesterolo è molto meno marcata. Durante terapia con fibrati si osserva quasi sempre un aumento del colesterolo HDL.

I fibrati vengono eliminati prevalentemente sotto forma di derivati glicuronidati; una quota variabile dal 60 al 90% della dose orale viene eliminata per via renale, ed una piccola percentuale per via fecale.

Il meccanismo d'azione dei fibrati sul metabolismo delle lipoproteine, delucidato recentemente a livello molecolare, coinvolge l'attivazione dei PPAR  $\alpha$  (Peroxisome Proliferator Activated Receptors), recettori ormonali nucleari (fattori trascrizionali) epatici attivati da ac. grassi e loro deri-

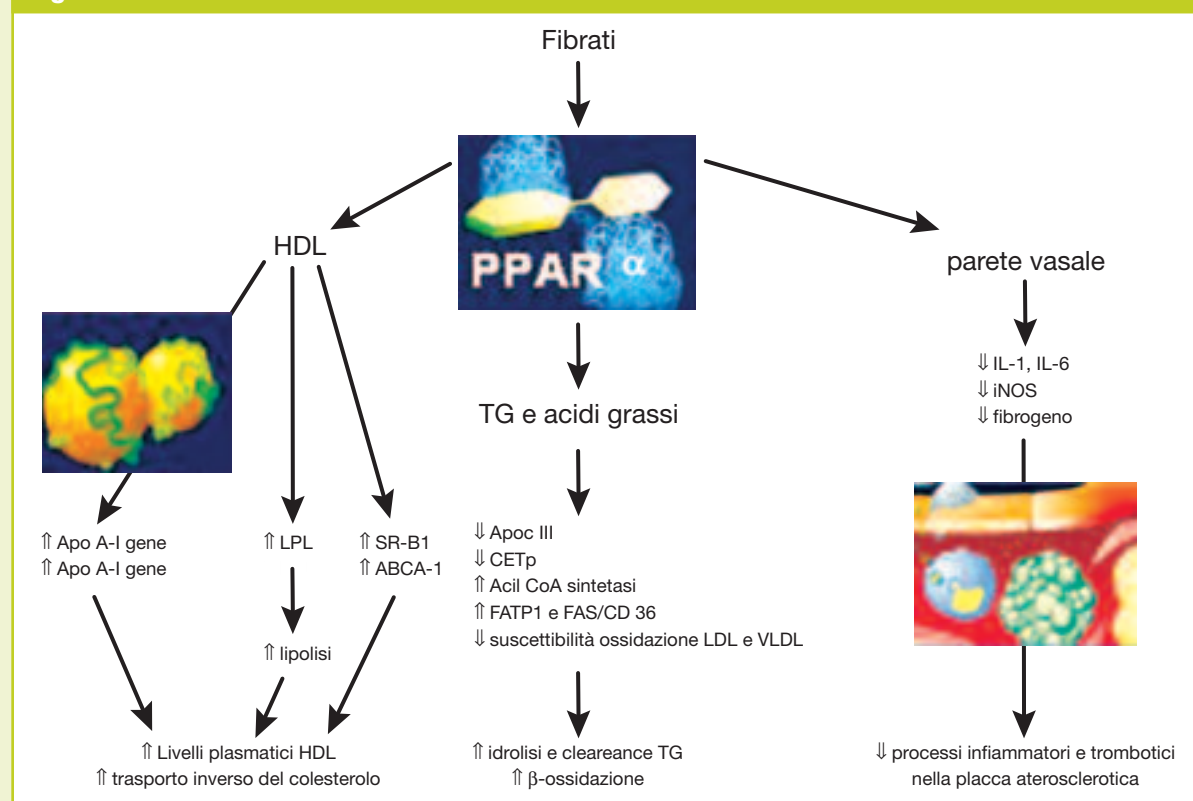
vati. Sono state identificate tre isoforme ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), ognuna caratteristica di un tessuto diverso. Mentre i PPAR  $\alpha$  sono coinvolti nel controllo del metabolismo lipidico e lipoproteico, i PPAR  $\gamma$  modulano la differenziazione cellulare, controllano l'adipogenesi e l'azione dell'insulina (Figura 1).

Rispetto alle statine, i fibrati hanno un impatto superiore sui livelli di TG e HDL e solo un basso impatto sui livelli di LDL: riducono i livelli delle VLDL del 40%, delle LDL dello 0-10% e aumentano i livelli di HDL di circa il 10%.

Le VLDL di diametro più elevato si riducono di più del 50% rispetto alle VLDL piccole che si riducono del 30%. L'ApoB viene ridotta dello 0-13%, mentre l'apoA1 aumenta di solo il 2-4%. I fibrati possono essere associati con le statine. In questo modo i TG si possono abbassare del 50% e le HDL possono aumentare del 19-24%.

L'attivazione dei PPAR  $\alpha$  da parte dei fibrati porta ad una modulazione della trascrizione di numerosi geni.

Figura 1





### **Apolipoproteina A-I e apolipoproteina AII**

I fibrati aumentano i livelli di apolipoproteina A-I (Apo A-I) del 13-20% e di apolipoproteina AII (Apo A-II) del 30%. L'effetto è dovuto ad un aumento della trascrizione dei geni, il trattamento di epatociti con fibrati aumenta sia i livelli di m-RNA sia la secrezione di Apo A-I nel fegato portando ad un aumento dei livelli plasmatici di Apo A-I e di HDL. I fibrati modulano anche l'espressione dell'Apo A-II, l'altra apolipoproteina fondamentale delle HDL. Sia in epatociti umani che in una linea di epatoblastoma umano i fibrati attivano PPAR- $\alpha$  che si lega al PPRE, situato nel promotore dell'Apo A-II, modulando positivamente la trascrizione del gene dell'Apo A-II.

### **Lipoproteina lipasi**

L'attivazione di PPAR- $\alpha$  induce l'espressione della lipoproteina lipasi (LPL) nel fegato, portando ad un aumento della lipolisi. PPRE è presente nel promotore della LPL sia nell'uomo che nel topo. Un aumento della lipolisi porta da un aumento delle pre- $\beta$ -HDL, coinvolte nei processi di trasporto inverso di colesterolo dalle cellule periferiche al fegato.

### **Recettore scavenger classe B tipo 1**

Recettore scavenger classe B tipo 1 (SR-B1) e il suo omologo umano CLA-1 sono recettori presenti sulla superficie cellulare in grado di legare le HDL con elevata affinità e di mediare l'uptake di esteri del colesterolo dalle HDL nel fegato e nei tessuti steroidogenici. Numerosi studi hanno dimostrato che l'efflusso di colesterolo mediato dalle HDL è correlato con i livelli di espressione di SR-B1 suggerendo che SR-B1 potrebbe promuovere la rimozione di colesterolo dalle cellule periferiche compresi i macrofagi.

Questo recettore gioca quindi un ruolo fondamentale nei processi di trasporto inverso di colesterolo. Il trattamento di macrofagi umani con attivatori dei PPARs porta ad un induzione dell'espressione di CLA-1; inoltre SR-B1 può essere indotto nelle aorte di topi privi del gene dell'apolipoproteina E (un modello animale di aterosclerosi) inseguito a trattamento con fibrati (Figura 2).

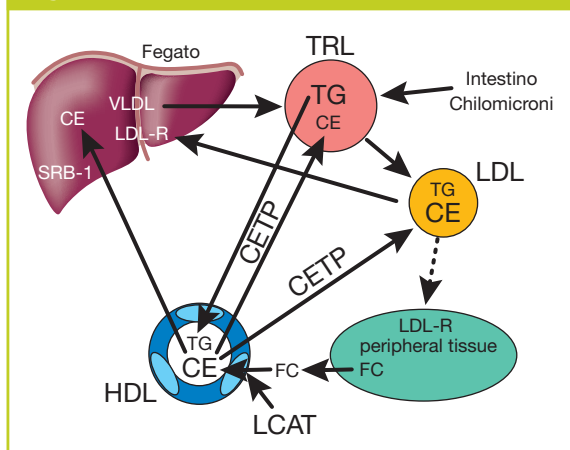
### **ATP-binding cassette transporter 1**

L'ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA-1) svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo delle HDL, favorendo l'efflusso di colesterolo non esterificato e fosfolipidi dalle cellule. Recentemente è stato dimostrato che l'attivazione di PPAR- $\alpha$  da parte del fenofibrato induce l'espressione dell'mRNA di ABCA-1 e della proteina nei macrofagi umani.

I fibrati attraverso la modulazione di questi 5 geni influenzano il metabolismo delle HDL. Aumentano la sintesi delle HDL inducendo l'espressione dell'Apo A-I, dell'APO A-II e della lipoproteina lipasi. Inoltre aumentando l'espressione dei recettori delle HDL, l'ABCA-1 e SR-B1/CLA-1 influenzano i processi di trasporto inverso di colesterolo favorendo i processi di efflusso dalle cellule periferiche e l'uptake nel fegato. Gli effetti dei fibrati sul profilo lipidico attraverso l'attivazione dei PPARs aumenta l'effetto protettivo delle HDL e porta ad un aumento dei benefici clinici.

L'attivazione di PPAR- $\alpha$  con i fibrati aumenta inoltre l'uptake e il catabolismo di acidi grassi (FA) portando ad una diminuzione dei livelli plasmatici di trigliceridi e VLDL. I livelli intracellulari di FA sono controllati dalla regolazione dell'uptake cellulare; i fibrati aumentano l'espressione della proteina trasportatrice degli acidi grassi I (FATP1) e della traslocasi dei FA (FAT/CD36). L'induzione della acil CoA sintetasi (ACS) catalizza l'esterificazione degli acidi grassi favorendo la ritenzione cellulare. Anche le proteine mitocon-

**Figura 2**



driali coinvolte nell'uptake e metabolismo degli acidi grassi vengono regolate dai fibrati come la carnitina palmitoiltrasferasi I e II, e diversi enzimi coinvolti nella beta ossidazione. La lipolisi intravascolare è regolata dalla LPL. I fibrati controllano l'attività della LPL sia inducendone l'espressione riduzione, sia inibendo l'espressione di ApoCIII, proteina che inibisce l'attività della LPL, con conseguente aumento della clearance delle VLDL e delle lipoproteine remnants (Figura 3).

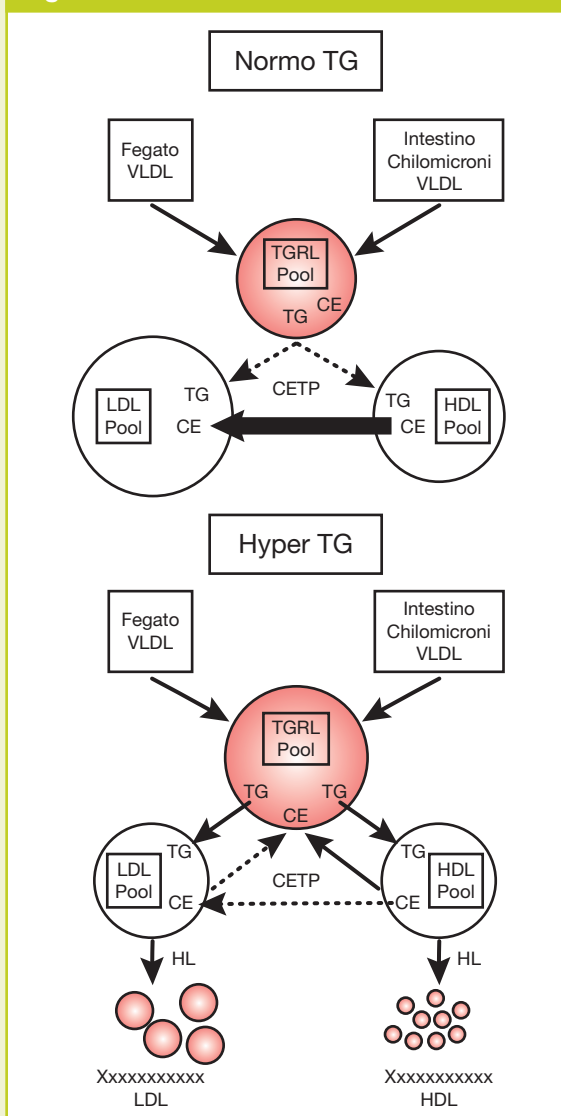
Numerosi altri geni coinvolti nei processi aterogeni a livello della parete vasale e nei mecca-

nismi di coagulazione e fibrinolisi sono modulati dai fibrati.

In particolare la terapia con fibrati porta a:

- Riduzione dell'attività della CETP (proteina di trasporto degli esteri del colesterolo) e variazione della composizione delle LDL; infatti la CETP facilita lo scambio di lipidi neutri tra le lipoproteine circolanti. La riduzione dell'attività della CETP determina un aumento delle HDL e la diminuzione delle LDL piccole e dense, probabilmente dovuto all'aumento del loro catabolismo. L'attività della CETP diminuisce in seguito a trattamento con fenofibrato e bezafibrato, probabilmente come conseguenza della diminuzione delle lipoproteine plasmatiche ricche in TG.
- Diminuzione della suscettibilità delle LDL, delle VLDL e dei remnants all'ossidazione. Questo effetto correla sia con la riduzione del substrato lipidico disponibile per l'ossidazione sia con modificazioni della composizione in ac. grassi delle particelle lipoproteiche che le rendono più resistenti allo stress ossidativo. Gli effetti sui livelli di Lp(a) sono generalmente insignificanti.
- Riduzione dei livelli plasmatici di fibrinogeno del 12-25%, (il gemfibrozil provoca un lieve aumento). Le variazioni del fibrinogeno plasmatico non sembrano correlare con i cambiamenti dei lipidi plasmatici e della PCR (proteina C reattiva).
- Effetti diretti sulle lesioni aterosclerotiche. I fibrati, attivando i PPARs espressi nell'endotelio, nelle cellule muscolari lisce e nei macrofagi, sono in grado di modulare in senso anti-infiammatorie le risposte a livello della parete vasale. Nelle cellule muscolari lisce i ligandi dei PPARs, gemfibrozil e fenofibrato, abbassano la produzione di IL-6, IL-1, citochine immunomodulatorie coinvolte nella risposta infiammatoria proliferativa e di 6-chetoPGF1 $\alpha$ . In vitro, la produzione di NO-sintasi sembra inibita nei macrofagi da un agonista sintetico dei PPAR $\alpha$ . Anche i ligandi dei PPAR $\gamma$  hanno un effetto antiinfiammatorio nell'aterogenesi con ripristino della funzione endoteliale. I ligandi dei PPARs come i fibrati hanno probabilmente una serie di effetti pleiotropici potenzialmente paragonabili a quelli delle statine.

Figure 3





I fibrati si possono utilizzare come terapia di scelta nelle ipertrigliceridemie primarie oppure nelle iperlipidemia mista e in combinazione con le statine nelle forme di Ipercolesterolemia familiare.

Le dislipidemie secondarie nelle quali i fibrati possono avere indicazioni particolari sono: diabete, sindrome metabolica di insulino-resistenza, obesità, insufficienza renale (pazienti con macroproteinuria, nefropatici, emodializzati post trapianto), l'uso di inibitori delle proteasi in pazienti positivi per HIV.

I fibrati sono generalmente ben tollerati ma occasionalmente si possono riscontrare alcuni effetti collaterali indesiderabili, sia clinici che di laboratorio. Per esempio, in corso di terapia con clofibrato, sono stati riportati episodi di nausea, diarrea, rash cutanei, astenia, impotenza con diminuzione della libido. Con una certa frequenza è stata anche notata la comparsa di dolori muscolari accompagnati da una elevazione dell'attività creatinfosfochinasi. Inoltre la somministrazione di clofibrato tende ad aumentare la litogenicità della bile ed è stata associata ad un'aumentata incidenza di colelitiasi e colecistite.

Effetti a livello muscolare (mialgia, aumento di CPK) si osservano raramente in monoterapia con fibrati mentre in pazienti con associazione fibrato + statina la presenza degli effetti tossici si osserva nel 2% dei casi ma è reversibile.

## **Farmaci che inibiscono l'assorbimento di colesterolo**

Il contributo giornaliero della dieta al pool di colesterolo intestinale è in media di 300 mg. Questa quantità può variare tra i vari individui o popolazioni a seconda delle differenti abitudini alimentari. Nel lume intestinale il colesterolo di origine dietetica si aggiunge ai circa 1.000 mg di colesterolo che è contenuto nella bile. Mediamente il 50% della quantità totale di colesterolo presente nell'intestino (1.300 mg) viene assorbito, mentre il resto viene eliminato con le feci. Si tratta, comunque, di un sistema dinamico: nell'ambito di una notevole variabilità interindividuale nell'assorbimento del colesterolo, si passa da un modesto 20% al 75% ed oltre. Inoltre, dati sperimentali

nell'animale e nell'uomo dimostrano come sia possibile modulare la capacità percentuale di assorbimento intestinale del colesterolo in funzione del colesterolo resosi disponibile per l'assorbimento: maggiore è la quantità assoluta presente nell'intestino minore sarà la percentuale assorbita. Per converso, in condizioni di deficit di colesterolo, l'organismo risponde incrementandone l'assorbimento intestinale; inoltre il colesterolo alimentare non viene immediatamente assorbito a dimostrazione che mentre l'uptake intestinale è rapido il rilascio ai chilomicroni circolanti è un processo più lento. L'insieme di questi dati suggerisce come a livello intestinale siano presenti dei fini meccanismi di regolazione.

Nella dieta che consumiamo regolarmente, ed in particolare nei vegetali, sono contenute anche altre sostanze di natura sterolica. L'intestino umano è in grado di discriminare l'assorbimento di colesterolo da quello degli steroli vegetali o fitosteroli. Il contenuto di colesterolo e fitosteroli nella dieta è equivalente; tuttavia mentre il colesterolo, come detto, è assorbito per circa il 50%, la percentuale di fitosteroli assorbita è di norma inferiore al 2%.

Il processo di assorbimento del colesterolo contenuto nella dieta e nella bile e degli steroli contenuti nella dieta ha dunque inizio nel lume intestinale dove gli steroli vengono solubilizzati grazie alla azione dei componenti della bile (sali biliari e fosfolipidi) in micelle.

Il colesterolo alimentare (300-500 mg) e gli steroli vegetali (150-450 mg) nel lume intestinale subiscono l'azione della bile e degli enzimi pancreatici. Una piccola parte del colesterolo alimentare è in forma di estere e viene trasformato in colesterolo libero da parte delle colesterolo-esterasi pancreatiche. A questo punto il colesterolo libero viene emulsionato in micelle ad opera della bile che contiene fosfolipidi, acidi e sali biliari e monogliceridi. Il colesterolo micellare può quindi attraversare la fase acquosa che sta a contatto con le membrane cellulari degli enterociti. Il colesterolo compete con i fitosteroli per l'uptake da parte degli enterociti a documentare la esistenza di un meccanismo comune ma altamente specifico che solo recentemente è stato in parte chiarito.

Utilizzando metodologie proprie della genomica

ca e della bioinformatica è stata identificata una proteina, la Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) che possiede le caratteristiche del trasportatore di colesterolo ed è espressa soprattutto nella mucosa digiunale di ratto. In un modello animale, un topo deficiente di tale proteina, si osserva una marcata riduzione della efficienza dell'assorbimento del colesterolo. La sequenza aminoacidica permette di proporre una struttura tipica di proteine di membrana in grado quindi di legare il colesterolo e facilitarne il trasporto verso l'interno. Di interesse inoltre la osservazione che la espressione di questa proteina è particolarmente abbondante nell'intestino tenue, a riprova di un ruolo funzionale in questa sede. Ad oggi non è del tutto chiarito se il colesterolo lega direttamente questa proteina o se la stessa partecipa come componente di un complesso macromolecolare che vede coinvolte altre proteine. Si tratta quindi di un primo target fisiologico interessante per il controllo del circolo entero-epatico del colesterolo.

Una volta attraversata la membrana dei villi intestinali il colesterolo viene esterificato ad opera dell'enzima acilcolesterolo-aciltransferasi o ACAT2. Il colesterolo estere viene quindi assemblato ad opera della Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTP) nei chilomicroni, che, attraverso il dotto toracico, raggiungono la circolazione sistemica e quindi il fegato. Tuttavia tale processo non è immediato ma si sviluppa nell'arco di 24 ore. Durante questo periodo una parte del colesterolo contenuto negli enterociti e la maggior parte dei fitosteroli vengono escreti nel lume intestinale ad opera di tre proteine trasportatrici di membrana: ATP-binding cassette A1 (ABCA1), ATP-binding cassette G5 e G8 (ABCG5 e 8), queste ultime note anche con il nome di steroline. Queste ultime sembrano giocare il ruolo maggiormente rilevante.

Una volta all'interno dell'enterocita il colesterolo può subire due differenti destini: essere risecretato nel lume intestinale ad opera di ABCG5 e 8 - le steroline - e di ABCA1 oppure essere esterificato da ACAT2 e prendere la via del reticolo endoplasmico dove insieme ai trigliceridi verrà assemblato sull'apolipoproteina B48 per dare origine ai chilomicroni nascenti. La esterificazione è specifica per il colesterolo e rende lo stesso non disponibile per

la secrezione verso il lume intestinale. I fitosteroli non esterificati vengono invece attivamente escreti verso il lume intestinale stesso. La beta sitosterolemia è una patologia legata ad un difetto del meccanismo di estrusione a livello intestinale dei fitosteroli, dovuto ad un deficit funzionale delle steroline che porta quindi ad un massiccio assorbimento dei fitosteroli (19, 20). Ruolo essenziale nel processo di inserimento dei lipidi su apoB48 è svolto dalla Microsomal Triglyceride Transfer Protein - MTP. Mentre il ruolo di MTP è cruciale per la formazione dei chilomicroni, tale proteina non sembra essere determinante nel processo di assorbimento. Diverso è, come abbiamo visto, il ruolo di ACAT2 e delle steroline, che in condizioni di eccesso di colesterolo alimentare espletano una funzione regolatrice. Acat2 è una delle due attività enzimatiche conosciute, responsabili della esterificazione del colesterolo all'interno delle cellule. ACAT2 è espressa sia negli epatociti che negli enterociti e rispetto ad ACAT1, presente in altri tessuti, sembra determinante nell'intestino per i processi di esterificazione del colesterolo libero assunto con la dieta. La localizzazione intracellulare di ACAT2 non è certa ma da studi in vitro potrebbe essere compartimentalizzata a vari livelli all'interno dell'enterocita, verosimilmente nel reticolo endoplasmico. ACAT2 esterifica il colesterolo e lo rende disponibile per l'assemblaggio all'interno dei chilomicroni.

Nel 1999 è stato definito il ruolo di ABCA1, quale proteina regolatrice dell'efflusso di colesterolo dalle cellule e determinante della formazione di HDL. Mutazioni genetiche in omozigosi che annullano la funzione di tale proteina di membrana sono responsabili di una rara patologia, la malattia di Tangier, caratterizzata da quasi totale assenza di HDL nel plasma e da accumulo di colesterolo cellulare. L'osservazione che ABCA1 è presente anche sul polo biliare degli epatociti e sulla membrana degli enterociti ha fatto postulare un suo coinvolgimento nei processi che regolano l'assorbimento e la eliminazione del colesterolo. Il gene ABCA1 è fortemente regolato dal colesterolo e suoi derivati, gli ossisteroli, attraverso dei recettori, LXR (liver X receptor) e RXR (retinoic X receptor) che legandosi agli ossisteroli formano un eterodimero - LXR/RXR - che si lega al promotore del gene

ABCA1 attivandone l'espressione. Gli studi in vitro su di un modello di cellule intestinali hanno dimostrato che i ligandi LXR/RXR aumentano sia l'espressione di ABCA1 che l'efflusso di colesterolo. Tuttavia gli studi in vivo hanno prodotto risultati contrastanti. In alcuni modelli animali ABCA1 knock-out, questa proteina sembrerebbe importante per eliminare il colesterolo nel tratto epatobiliare e nell'intestino, riducendone l'assorbimento. Altri studi hanno dimostrato che ABCA1 non gioca un ruolo fisiologicamente importante, mentre altri trasportatori potrebbero essere coinvolti nella eliminazione biliare ed intestinale del colesterolo.

L'assorbimento intestinale del colesterolo inizia a livello dell'intestino tenue, dove avviene la solubilizzazione delle micelle del colesterolo introdotto con la dieta o di origine biliare. Il colesterolo viene, quindi, trasferito dalle micelle alla superficie della membrana degli epatociti e quindi al compartimento citosolico. Il colesterolo si muove nel reticolo endoplasmatico dove può essere esterificato dall'acyl-CoA: cholesterol acyltransferasi (ACAT) per formare colesterolo estere. Il colesterolo estere e libero vengono poi inseriti nei chilomicroni, i quali vengono secreti nel dotto linfatico. Una volta in circolo, in seguito all'azione della lipasi lipoproteica il fegato metabolizza velocemente i chilomicroni e i loro remnants. Le conseguenze dell'inibizione dell'assorbimento del colesterolo includono la diminuzione del rilascio di colesterolo dal fegato, la riduzione dei livelli di colesterolo immagazzinati negli epatociti, la riduzione della sintesi di LDL, l'aumento della clearance delle LDL e di conseguenza una diminuzione dei livelli di LDL-C.

### **Fitosteroli**

I fitosteroli sono molecole simili al colesterolo che si trovano principalmente nelle piante, in particolare negli oli vegetali. Vengono assorbiti in quantità minime, tuttavia inibiscono l'assorbimento intestinale di colesterolo, compreso il colesterolo biliare, favorendo la sua eliminazione. Esistono due principali classi di fitosteroli, i 5 steroli e i 5-steroli ridotti (stanoli); complessivamente la loro assunzione giornaliera con la dieta è di circa 164-437 mg, sono poco solubili in acqua ma vi possono esse-

re dispersi dopo essere stati emulsionati con fosfolipidi. Una dose di 2 g/die riduce la concentrazione delle LDL del 10%. Sono ancora in corso studi per valutare gli effetti della somministrazione di piccole dosi di fitosteroli, tuttavia sembra che un effetto sia osservabile già a dosaggi di 150 mg/die.

### **Resine a scambio ionico**

Le resine a scambio ionico sono resine sequestranti gli acidi biliari che non vengono assorbite dal tubo gastroenterico. La colestiramina è il sale cloruro di una resina basica scambiatrice di anioni. Il colestipolo cloridrato è un copolimero della dietilpentamina e della epicloroidrina. Un'altra importante resina a scambio ionico, non in commercio in Italia è il covaleram.

Si tratta di sostanze idrofile ma insolubili nell'acqua. Non vengono attaccate dagli enzimi digestivi, rimangono immutate nel tratto gastroenterico e non vengono assorbite.

L'utilizzo delle resine a scambio ionico è indicato in soggetti intolleranti all'uso delle statine o altri farmaci ipolipemizzanti o in associazione a statine nei soggetti in cui la monoterapia con permette di raggiungere il goal terapeutico desiderato.

Le resine sequestranti gli acidi biliari riducono la concentrazione plasmatica del colesterolo grazie alla loro proprietà di ridurre il livello delle LDL. La diminuzione della concentrazione di LDL si manifesta dopo 4-7 giorni e si avvicina al 90% del suo effetto massimo entro due settimane. L'intensità dell'effetto sulle LDL è proporzionale al dosaggio e comunque comporta solitamente una diminuzione intorno al 20%. Durante le prime settimane di terapia con una resina sequestrante gli acidi biliari si verifica, nella maggior parte dei pazienti un aumento del 5-20% della concentrazione plasmatica dei trigliceridi (VLDL); questo aumento scompare poi gradualmente e i livelli di VLDL ritornano nei valori pre-terapeutici entro 4 settimane.

Questi farmaci risultano spesso sgraditi ai pazienti per la loro consistenza sabbiosa o granulare. Non essendo assorbiti non presentano effetti collaterali a livello sistemico; altri disturbi frequentemente riportati sono nausea, dispepsia, dolori addominali e stipsi. Le resine a scambio ionico, oltre a far aumentare transitoriamente le concentrazioni

ni plasmatiche dei trigliceridi, aumentano le concentrazioni di fosfatasi alcalina e delle transaminasi epatiche.

L'assorbimento delle vitamine liposolubili può essere alterato, rendendo necessario in alcuni casi la supplementazione vitaminica. Le resine possono sequestrare altri composti presenti nell'intestino fra cui farmaci acidi somministrati contemporaneamente. Questo fenomeno è stato osservato, soprattutto, durante la co-somministrazione con clorotiazide, fenilbutazone, fenobarbitale, anticoagulanti, tiroxina e composti digitatici. Come regola generale eventuali altri farmaci andrebbero somministrati almeno un'ora prima o quattro ore dopo l'assunzione della resina.

### **Ezetimibe**

Ezetimibe (SCH 58235) è il primo di una nuova classe di farmaci ipolipemizzanti, gli inibitori dell'assorbimento del colesterolo. È indicato come monoterapia o in associazione ad inibitori dell'HMG-CoA reduttasi nei pazienti ipercolesterolemici.

Ezetimibe è un inibitore selettivo dell'assorbimento del colesterolo (inibizione esclusiva dell'assorbimento del colesterolo, ma non degli altri grassi), appartenente alla classe dei 2-azetidioni. La presenza di un atomo di fluoro aggiuntivo rispetto ad altri analoghi caratterizza la sua maggiore efficacia, il suo ridotto metabolismo da parte del citocromo P450 ed il profilo di interazione con altri farmaci.

Il sito ed il meccanismo d'azione dell'ezetimibe non sono stati ancora completamente identificati, anche se informazioni preliminari individuano nella proteina NPC1L1 il possibile bersaglio. La molecola subisce un processo di glucuronidazione che ne mantiene l'attività. Studi effettuati su ratti con ezetimibe radio-marcato suggeriscono che il farmaco si localizza a livello dell'orletto a spazzola della mucosa del piccolo intestino, dove blocca l'assorbimento di colesterolo da parte degli enterociti (*Figura 4*). Studi condotti su modelli animali hanno dimostrato un'inibizione dell'assorbimento di colesterolo pari al 75%.

Paragonato ad altri farmaci ipolipemizzanti che agiscono a livello enterico (le resine a scambio ionico) ezetimibe sembra non interferire con l'assor-

bimento dell'acido taurocolico e dei trigliceridi.

Ezetimibe ha dimostrato un'attività ipocolesterolemizzante selettiva e statisticamente significativa in topi, ratti, cani e scimmie nutrite con una dieta ricca in colesterolo; ad esempio la somministrazione di ezetimibe alla dose di 1 mg/Kg ha inibito l'assorbimento di colesterolo del 92% in ratti nutriti con dieta ricca di colesterolo.

In studi effettuati su topi "ApoE knockout", modello animale di ipercolesterolemia severa e rapido sviluppo di aterosclerosi, ezetimibe alla dose di 3 mg/Kg ha inibito l'assorbimento di colesterolo in una percentuale maggiore del 90%.

Dopo sei mesi di terapia i livelli plasmatici di colesterolo totale sono risultati ridotti di più del 60% rispetto ad animali non trattati; si è assistito, inoltre, ad una significativa riduzione della superficie delle lesioni aterosclerotiche aortiche.

Tuttavia, nonostante la riduzione dell'assorbimento intestinale di colesterolo, l'analogo dell'ezetimibe SCH 48461 sembra promuovere la sintesi di colesterolo epatico come effetto compensatorio. Per questo motivo sono stati studiati modelli animali di ipercolesterolemia cui è stata somministrata terapia combinata rappresentata da una statina (lovastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina) più ezetimibe al dosaggio di 0,007 mg/kg; i risultati ottenuti supportano l'efficacia dell'uso della terapia di associazione al fine di aumentare il potere ipocolesterolemizzante.

La monoterapia con ezetimibe è stata valutata soprattutto in pazienti affetti da ipercolesterolemia primitiva, definita come valori di Col. LDL compresi fra 130 e 250 mg/dL e livelli di trigliceridi  $\leq 350$  mg/dL. In uno studio di fase II circa 300 soggetti affetti da ipercolesterolemia primitiva sono stati randomizzati alla terapia con ezetimibe 5 o 10 mg/die per un periodo di 12 settimane; il trattamento ha condotto alla riduzione dei valori di Col. LDL del 16% e 19% rispettivamente; il 45% ed il 69% dei soggetti assegnati alla terapia con ezetimibe 5 mg e 10 mg, rispettivamente, hanno raggiunto una riduzione dei livelli di colesterolo LDL  $\geq 25\%$ .

Utilizzando la concentrazione plasmatica di ezetimibe come surrogato della concentrazione del farmaco a livello del sito di azione Essez et al. hanno

stabilito la relazione fra la concentrazione plasmatica di ezetimibe e gli effetti sulla riduzione del colesterolo LDL. Soggetti adulti affetti da ipercolesterolemia primitiva sono stati assegnati all'assunzione di ezetimibe al dosaggio di 0,25 mg, 1 mg, 5 mg o 10 mg per un periodo di 12 settimane.

Dopo 12 settimane di terapia si è assistito ad una riduzione dei valori basali di colesterolo LDL compresi fra il 15,8% per 0,25 mg e il 19,4% per 10 mg, rispetto al placebo.

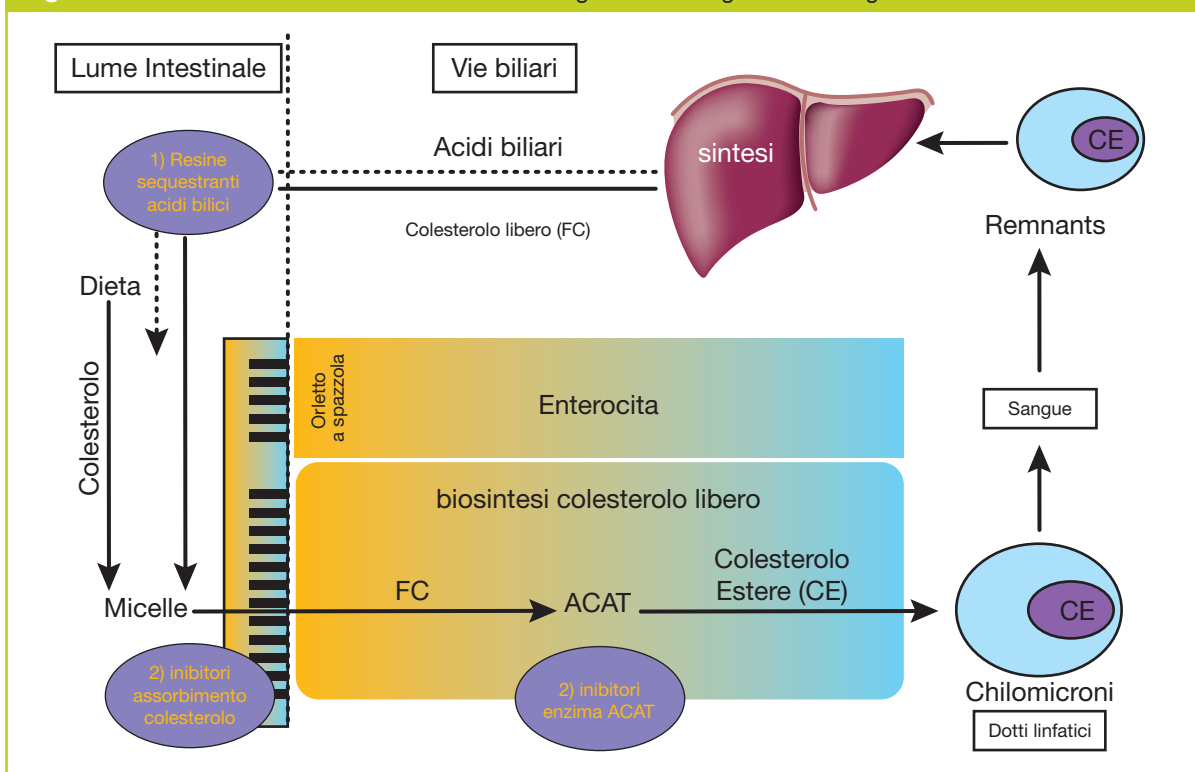
Sudhop et al hanno condotto il primo studio disegnato per valutare l'effetto del farmaco sull'assorbimento intestinale di colesterolo; in questo studio randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, crossover, 18 uomini con ipercolesterolemia lieve-moderata (Col. LDL compreso fra i 130 e 180 mg/dL; trigliceridi < 250 mg/dL) sono stati randomizzati all'assunzione di ezetimibe 10 mg/die o placebo per un periodo di due settimane, cui ha fatto seguito un wash-out di 2 settimane, dopo il quale è stato effettuato un cross-over al trattamento alternativo per altre due settimane.

Criteri di esclusione comprendevano l'assunzione di farmaci ipolipemizzanti entro le 6 settimane precedenti l'arruolamento, storia di abuso di alcolici, presenza di patologie endocrine, epatiche o renali. L'end-point primario è stato la valutazione dell'effetto del farmaco sull'assorbimento di colesterolo. Nel complesso è stata osservata una riduzione dell'assorbimento di colesterolo pari al 54% ed un incremento compensatorio della sintesi epatica nei soggetti trattati con farmaco. Dopo due settimane di trattamento con ezetimibe si è assistito ad una riduzione dei valori di Col. LDL del 20,4% (da 142 mg/dL a 111 mg/dL), contro un aumento non significativo dell'1,9% nel gruppo placebo. Non sono state osservate variazioni significative dei valori di Col. HDL e Trigliceridi rispetto al base-line nei soggetti trattati.

#### Simvastatina

In uno studio randomizzato, in doppio cieco controllato con placebo, effettuato su 668 pazienti con ipercolesterolemia, Davidson et al. hanno analiz-

**Figura 4** Vie di metabolismo del colesterolo esogeno e bersagli farmacologici





zato la terapia concomitante fra ezetimibe e simvastatina. I soggetti sono stati assegnati a differenti bracci di trattamento per 12 settimane: placebo, EZE 10 mg, simva 10, 20, 40 oppure 80 mg in monoterapia o in associazione con EZE 10 mg. I valori di LDL-C con EZE si riducevano del 18% circa, con simva, complessivamente, del 36% circa, mentre l'associazione tra EZE e tutti i gruppi di simva procurava una riduzione del 51% circa di LDL-C. Contestualmente si osservavano anche una maggiore riduzione di trigliceridi (-24% vs. -16%) ed un maggiore incremento di HDL-C (+9% vs. +6%) nei gruppi di associazione EZE+simva rispetto ai soggetti trattati con simva a tutte le dosi. I dati più significativi riguardano però l'analisi per sottogruppi di trattamento con simva. Viene infatti dimostrato che l'associazione tra EZE e simva 10 mg comporta la stessa riduzione di LDL-C che si ottiene con il dosaggio massimo di statina in monoterapia (entrambi -44%); l'associazione EZE+simva 80 mg è in grado di ridurre i livelli di LDL-C anche del 57%. Inoltre con la terapia di associazione il 91% dei pazienti raggiungeva i goals terapeutici dettati dall'ATP III, più elevati della terapia con simva (76%) o EZE (39%) da sole. Infine la contemporanea somministrazione dei due farmaci era stata ben tollerata, con meno del 2% di casi di incremento delle TGO/TGP (> 3 ULN) e nessun caso di CPK > 10 ULN. Il dato che l'associazione tra EZE 10 mg con simva 10 mg ha la stessa efficacia di simva a dosaggio massimale è stato confermato ulteriormente da Goldberg et al. in uno studio multicentrico della durata di 12 settimane, effettuato su 887 pazienti. Sager et al. hanno valutato l'effetto dell'associazione tra EZE e simva sui livelli di proteina C-reattiva, dimostrando che l'associazione la riduceva maggiormente rispetto alla sola simva (-34.8% vs. -18.2%). Kosoglou et al. hanno invece valutato il dosaggio incrementale di EZE (da 0.25 a 10 mg) in associazione a simva 10 mg in circa 50 pazienti maschi ipercolesterolemici. I dati di questo studio dimostrano che all'aumentare del dosaggio di EZE c'è un maggiore beneficio in termini di riduzione di LDL-C (da -35% a -51%). In pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote, in terapia con simva o atorva 40 mg associate o meno ad LDL-afesi, l'aggiunta di EZE

ha prodotto risultati migliori rispetto all'aumento di entrambe le statine ad 80 mg, e quindi l'associazione può rappresentare un supporto farmacologico anche in questa categoria di pazienti a rischio particolarmente elevato.

### **Atorvastatina**

Ballantyne et al. hanno invece analizzato l'associazione tra EZE ed atorva in uno studio randomizzato, in doppio cieco controllato con placebo, effettuato su 628 pazienti con ipercolesterolemia primitiva con un disegno sovrapponibile allo studio di Davidson et al.. Dopo una fase iniziale di pre-randomizzazione, i soggetti sono stati assegnati al trattamento con placebo, EZE 10 mg, atorva 10, 20, 40 oppure 80 mg in monoterapia oppure associata ad EZE 10 mg. Al termine delle 12 settimane di fase attiva dello studio i valori di LDL-C con EZE si riducevano del 18% circa, con atorva del 42% circa, mentre l'associazione tra EZE e tutti i gruppi di atorva determinava una riduzione del 56% circa di LDL-C. Anche in questo caso si osservava una maggiore riduzione di trigliceridi (-32% vs. -24%) ed un maggiore incremento di HDL-C (+7% vs. +4%) nei gruppi di associazione EZE+atorva rispetto ai soggetti trattati con atorva. Nell'analisi per sottogruppi di trattamento con atorva, l'associazione tra EZE e atorva 10 mg comportava una riduzione di LDL-C analoga a quella che si ottiene con il dosaggio massimo di atorva (80 mg) in monoterapia (rispettivamente -50% e -51%). L'associazione tra EZE ed atorva era in grado di ridurre i livelli di LDL-C fino ad un massimo del 60%. Anche i valori di proteina C-reattiva si riducevano in maniera maggiore con l'associazione tra EZE ed atorva (fino a -62%). Anche in questo caso c'era una totale tollerabilità dell'associazione con meno del 2% di casi di incremento delle TGO/TGP (> 3 ULN) e < 1% di CPK > 10 ULN. L'efficacia e la tollerabilità sono stati poi confermati dai dati dello studio di estensione ad un anno.

### **Altre Statine**

In uno studio multicentrico, Melani et al. hanno analizzato l'associazione tra EZE e prava al dosaggio di 10, 20 o 40 mg in 538 pazienti ipercoleste-



rolemeici. Analogamente agli studi con simva ed atorva, in questo lavoro la prava associata all'EZE ha determinato una riduzione più marcata di LDL-C e trigliceridi ed un più marcato incremento di HDL-C rispetto alla prava da sola (ripettivamente -38% vs. -24%, -18% vs. -8% e +8% vs. +7%).

L'associazione tra pravastatina 10 mg ed EZE ha causato una riduzione di LDL-C del 34%, perfino maggiore del dosaggio massimo di prava (40 mg, -29%). Associando i due farmaci, circa l'82% dei pazienti raggiungeva i goals dell'ATP III con una buona tollerabilità. Kerzner et al. hanno invece valutato l'associazione tra EZE e lova in 548 soggetti. Anche in questo caso i risultati hanno dimostrato che la contemporanea somministrazione dei due farmaci era più efficace della sola terapia con lova con un maggior numero di pazienti che raggiungevano i goals terapeutici (85%). Sono stati anche presentati dati preliminari di associazione con la rosuvastatina che confermano che la co-somministrazione di questi farmaci è una valida alternativa alla titolazione della statina verso alti dosaggi.

### **Tutte le Statine**

In 769 pazienti che erano già in terapia con una statina (1/3 simva, 1/3 atorva ed 1/3 altre statine), Gagnè et al. hanno aggiunto per 8 settimane EZE 10 mg o placebo. L'effetto finale è stato un ulteriore decremento dei livelli di LDL-C del 21%, di trigliceridi del 11% ed un incremento di HDL-C del 2% nel gruppo trattato con EZE rispetto al gruppo placebo; anche la proteina C reattiva si riduceva ulteriormente del 10%. Tra i pazienti che non erano al goal terapeutico, il 71.5% lo raggiunse con l'EZE. La distribuzione del beneficio era abbastanza omogenea in base al tipo di statina, ma anche in relazione a sesso, età, razza, peso e categorie di rischio. La tollerabilità infine era ottima. Più recentemente Davidson et al. hanno pubblicato i risultati di uno studio di cosomministrazione con le principali statine in 2.382 soggetti.

I risultati di questo studio hanno chiaramente evidenziato come ezetimibe in monoterapia, porti ad una marcata riduzione del colesterolo LDL (-19%) ed un ulteriore 14-16% quando co somministrato con una statina a qualunque dose. Per quanto riguarda il profilo di sicurezza si è confer-

mata la ottima tollerabilità di ezetimibe sia pr quanto riguarda il profilo epatico, che per l'insorgenza di miopatie.

In conclusione quindi i dati degli studi di intervento hanno dimostrato che la terapia combinata tra una statina e l'ezetimibe consente di ottenere riduzioni di LDL-colesterolo maggiori rispetto alla monoterapia ed è assolutamente ben tollerata, al contrario di altre associazioni di farmaci ipolipemizzanti. Inoltre l'associazione tra l'ezetimibe ed una statina a basso dosaggio produce effetti sovrapponibili o, in alcuni casi, superiori, rispetto alle dosi massime consigliate ma con un numero di effetti collaterali sicuramente inferiori. La contemporanea somministrazione di questi farmaci, estemporanea o come associazione preconstituita come è in corso di sperimentazione, rappresenta quindi una nuova modalità di trattamento delle ipercolesterolemie e consente di ottenere traguardi terapeutici insperati nella monoterapia. I dati nei soggetti con ipercolesterolemia familiare omozigote dimostrano inoltre le notevoli potenzialità di ezetimibe nella terapia di questi pazienti.

### **Inibitori dell'ACAT**

L'Acyl-coenzima A: colesterol-aciltransferasi (ACAT) è stato recentemente preso in considerazione come potenziale target terapeutico nella prevenzione della malattia aterosclerotica. Tale enzima si ritrova in numerosi tessuti nei quali sia prevista una forma di accumulo del colesterolo, compresi la parete intestinale, il parenchima epatico ed i macrofagi isolabili a carico delle pareti arteriose. Infatti l'accumulo di esteri del colesterolo a livello dei macrofagi necessita della presenza di ACAT, che, a tutti gli effetti, promuove la formazione delle cosiddette "foam cells"; l'enzima è inoltre coinvolto nella sintesi delle VLDL dal fegato.

Gli inibitori dell'ACAT hanno portato ad una riduzione degli esteri del colesterolo e di macrofagi a livello delle lesioni ateromasiche aortiche e femorali in numerosi studi preclinici. Studi in vitro su macrofagi umani hanno mostrato l'inibizione della formazione delle cellule schiumose e la riduzione da parte del fegato della secrezione di lipoproteine contenenti ApoB.

In un primo studio su 130 uomini e donne con iperlipidemia e ipoalfalipoproteinemia, l'avasimibe (il principale esponente di tale categoria di farmaci) al dosaggio di 50-500 mg/die ha ridotto in misura significativa le VLDL colesterolo e i trigliceridi plasmatici. Tuttavia i livelli di colesterolo totale, colesterolo LDL e colesterolo HDL si sono mantenuti sui valori iniziali.

Recentemente sono stati pubblicati i dati di uno studio atto a valutare l'efficacia di avasimibe sulla progressione delle placche aterosclerotiche coronariche (valutate mediante ultrasonografia intravasale); la somministrazione del farmaco al dosaggio di 50 mg, 250 mg e 750 mg in soggetti ipercolesterolemici non ha condotto a sostanziali modificazioni del volume delle placche aterosclerotiche, se confrontato con placebo, in un periodo di 24 mesi.

### **Inibitori della CETP**

Recenti studi condotti con inibitori della CETP (cholesteryl ester transfer protein) hanno evidenziato un sostanziale aumento dei valori di colesterolo HDL (circa 40% nei soggetti in mono-terapia e circa 60% nei pazienti cui è stata co-somministrata atorvastatina 20 mg/die) e decremento dei valori di Col. LDL (17% nei soggetti in terapia di associazione). Inoltre tali farmaci hanno dimostrato, mediante analisi con spettrometria nucleare magnetica, una modificazione della distribuzione di colesterolo fra HDL e LDL (aumento volumetrico delle sottoclassi HDL e LDL).

Il potenziale ruolo pro-aterogenico della CETP è stato per la prima volta intuito circa 10 anni or sono, ed in tale periodo è nata l'ipotesi di una sua inibizione come terapia "antiaterosclerotica".

L'aterogenicità di tale enzima deriva dalla sua azione fisiologica, cioè il trasferimento di esteri del colesterolo dalle HDL (considerate protettive) verso le VLDL ed LDL (considerate aterogeniche). Tuttavia è doveroso ricordare che la CETP può essere coinvolta anche nel trasporto inverso del colesterolo (dalle VLDL ed LDL alle HDL), anche se numerosi studi condotti su animali hanno evidenziato un effetto antiaterogenico derivato dalla sua

inibizione. CETP è una glicoproteina idrofobia, secreta prevalentemente a livello epatico, che si ritrova in circolo principalmente legata alle HDL; essa promuove lo scambio e la redistribuzione degli esteri del colesterolo, dei trigliceridi e dei fosfolipidi fra le lipoproteine plasmatiche.

L'effetto globale è quello di un trasferimento netto di esteri del colesterolo dalle HDL alle lipoproteine ricche in trigliceridi ed alle LDL e di trigliceridi dalle lipoproteine ricche in trigliceridi alle LDL ed alle HDL.

In condizioni normali il trasferimento di esteri del colesterolo CETP-mediato è relativamente rapido, rispetto al catabolismo delle HDL e delle LDL, da cui consegue che il pool di esteri del colesterolo in queste lipoproteine è in equilibrio.

Quando i livelli di VLDL plasmatiche sono normali, il trasferimento di esteri di colesterolo dalle HDL è indirizzato prevalentemente verso le LDL; al contrario nei pazienti ipertrigliceridemicici, in cui si osservano elevati valori plasmatici di VLDL (come ad esempio i soggetti diabetici), gli esteri del colesterolo vengono rediretti preferenzialmente verso queste ultime lipoproteine, che diventano ricche di colesterolo e, quindi, potenzialmente più dannose. Il trasferimento alle VLDL sembra essere maggiormente attivo in fase post-prandiale.

CETP contribuisce allo sviluppo di un fenotipo lipidico aterogenico in vari modi, di cui i principali sembrano essere il trasferimento di esteri del colesterolo verso le VLDL, che diventano così aterogeniche, e la sua interazione con la lipasi dei trigliceridi che conduce alla formazione di LDL ed HDL piccole e dense.

Numerose specie animali, tra cui i topi ed i ratti, non possiedono geni codificanti per la CETP; l'introduzione di un gene umano codificante per tale proteina nel patrimonio genetico di uno dei precedenti animali conduce ad una riduzione dose dipendente dei valori di colesterolo HDL, ad un modico incremento del colesterolo VLDL ed LDL ed alla formazione precoce di "strie grasse".

In conigli alimentati con dieta ricca di colesterolo l'inibizione della CETP ha condotto ad una riduzione del colesterolo plasmatico totale, ad un aumento del colesterolo HDL ed una diminuzio-

ne del 70% circa delle lesioni ateromasiche a livello aortico.

Nell'uomo esistono condizioni di deficit congeniti di CETP, causati da numerose mutazioni a livello del gene predisposto alla sua sintesi.

Il deficit di CETP nell'uomo si associa generalmente ad un aumento dei valori di colesterolo HDL, e ad una riduzione dei valori plasmatici di ApoB (ridotta sintesi ed accelerato catabolismo, per un aumento di espressione del recettore per le LDL a livello epatico).

La correlazione fra i deficit congeniti di CETP e malattia aterosclerotica è complessa; ad esempio nell'Honolulu Heart Study molti pazienti sono risultati eterozigoti per la mutazione D442G del gene per la CETP; quelli in cui i valori di colesterolemia HDL è risultata compresa fra i 40 ed i 60 mg/dL presentavano un rischio maggiore di CHD (anche se la numerosità del campione è risultata troppo bassa per risultare statisticamente significativa), al contrario di coloro con colesterolo HDL > 60 mg/dL. Altri studi hanno dimostrato una sostanziale riduzione del rischio per CHD in soggetti con mutazione del gene per la CETP con colesterolo HDL >80 mg/dL.

A partire dal 2003 è entrato in sperimentazione (fase II) sull'uomo un nuovo inibitore della CETP, somministrato a soggetti sani moderatamente ipercolesterolemici; la somministrazione dell'inibitore ha condotto ad una riduzione del 37% dell'attività plasmatica della CETP, ad un incremento del 34% dei valori di colesterolo HDL ed una riduzione del 7% del colesterolo LDL.

Più recentemente è stato condotto uno studio con un nuovo inibitore della CETP (*torcetrapib* 120 o 240 mg/die) su 19 soggetti con ridotti valori di colesterolo HDL, 9 dei quali già in trattamento con atorvastatina 20 mg/die. Si è assistito ad un aumento dei valori di colesterolo HDL del 61% e 46% (rispettivamente nei soggetti non trattati con atorvastatina ed in quelli già in terapia) e ad una riduzione del 17% dei valori di colesterolo LDL nei soggetti già trattati con atorvastatina.

Tuttavia tali risultati positivi dovranno essere confermati in futuro, mediante studi che prendano in considerazione l'efficacia sulla prevenzione degli eventi coronarici.

### **Stimolazione ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1)**

L'ATP – binding cassette transporter A1 è una proteina transmembrana coinvolta nel “trasporto inverso del colesterolo” (tessuti periferici e fegato), promuovendo anche l'efflusso di esteri del colesterolo dalla parte arteriosa. Numerosi studi condotti su topi transgenici hanno messo in evidenza che la ridotta funzionalità di tale proteina conduce ad un drastico abbassamento del colesterolo HDL plasmatico (protettivo nei confronti della patologia aterosclerotica) ed allo sviluppo di aterosclerosi precoci; al contrario la sua promozione conduce ad un aumento dell'efflusso di colesterolo dai macrofagi a livello della parete arteriosa e ad una ridotta formazione di lesioni aterosclerotiche. Tale proteina sembra essere, inoltre, coinvolta nell'assorbimento intestinale del colesterolo. Sono state fino ad oggi documentate numerose mutazioni del gene relativo, correlate ad alcuni fenotipi caratteristici, come l'ipo-alfalipoproteinemia familiare (FHA) e la malattia di Tangier, entrambe caratterizzate da livelli estremamente bassi di colesterolo HDL. Partendo da tali presupposti fisio-patologici, recentemente l'interesse è stato indirizzato nei confronti di farmaci potenzialmente in grado di promuovere l'espressione o la funzionalità dell'ABCA1. Nel corso degli ultimi due anni sono stati pubblicati i dati relativi a studi condotti su animali relativi all'uso di fibrati che, agendo a livello dei recettori PPAR-alfa, sembrerebbero ridurre l'assorbimento intestinale del colesterolo nei ratti, indipendentemente dalla quantità di colesterolo assunta con la dieta; attualmente sono in corso di studio agonisti dei recettori PPAR – alfa differenti dai fibrati.

Ancora più recentemente sono stati pubblicati dati relativi all'effetto del probucolo e degli inibitori dell'HMG-CoA-reduttasi sull'espressione tissutale dell'ABCA1 e sulla sua funzionalità, sia *in vivo* che *in vitro*. Entrambi i farmaci sembrano inibire l'espressione della proteina (le statine esclusivamente *in vitro*, il probucolo anche *in vivo*, portando ad una lieve riduzione della colesterolemia HDL nei soggetti trattati).

Anche tale approccio terapeutico necessita di supporti forniti da futuri studi di intervento.

## Bibliografia

- Ballantyne C, Houri J, Notarbartolo A et al. Effects of ezetimibe coadministered with atorvastatin in 628 patients with primary hypercholesterolemia: A prospective, randomized, double-blind trial. *Circulation* 2003; 107: 2409-2415.
- Berge KE, Tian H, Graf GA et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290: 1771-1775.
- Bocan TM, Krause BR, Rosebury WS, Lu X, Dagle C, Bak Mueller S, Auerbach B, Sliskovic DR. The combined effect of inhibiting both ACAT and HMG-CoA reductase may directly induce atherosclerotic lesion regression. *Atherosclerosis* 2001 Jul; 157(1): 97-105.
- Brousseau ME. ATP binding cassette transporter A1, fatty acids, and cholesterol absorption. *Curr Opin Lipidol* 2003 Feb; 14 (1): 35-40.
- Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, Mancuso JP, Rader DJ. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med* 2004 Apr 8; 350(15): 1505-15.
- Downs JR, Clearfield M, Weis S et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of the AFCAPS/TexCAPS. *Air Force/ Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. JAMA* 1998; 279: 1615-1622.
- Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 7-22.
- Hovingh GK, Van Wijland MJ, Brownlie A., Basischewsky R, Hayden M, Kastelein JJ, Groen AK. The role of ATP binding cassette transporter A1 and cholesterol efflux in familial hypoalphalipoproteinemia.
- Jean-Claude Tardif, MD; Jean Grégoire, MD; Philippe L. L'Allier, MD; Todd J. Anderson, MD, Olivier Bertrand, MD; Francois Reeves, MD; Lawrence M. Title, MD; Fernando Alfonso, MD; Erick Schampaert, MD; Alita Hassan, MPH; Richard McLain, MSc; Milton L. Pressler, MD; Reda Ibrahim, MD; Jacques Lespérance, MD; John Blue, PharmD; Therese Heinonen, DVM; Josep Rodés-Cabau, MD; for the Avasimibe and Progression of Lesions on UltraSound (A-PLUS) Investigators. Effects of the Acyl Coenzyme A: Cholesterol Acyltransferase Inhibitor Avasimibe on Human Atherosclerotic Lesions. *Circulation* 2004; 110: 3372-3377.
- Knopp RH. Drug treatment of lipid disorders. *N Engl J Med*. 1999; 341: 498-511
- Knopp RH, Gitter H, Truitt T et al. Effects of ezetimibe, a new selective cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J* 2003; 24: 729-741.
- Owen JS, Mulcahy JV. ATP binding cassette A1 protein and HDL homeostasis. *Atheroscler Suppl* 2002 Dec; 3 (4): 13-22.
- Rader DJ. Inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity: a new therapeutic approach to raising high-density lipoprotein. *Curr Atheroscler Rep* 2004 Sep; 6(5): 398-405.
- Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro J-MA et al. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science* 2000; 289: 1524-1529.
- Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB et al. (2002) Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1623-1630.
- Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1623-1630.
- Shepherd J, Cobbe SM, Ford I et al., for the West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1995; 333: 1301-1307.
- Srivastava N. ATP binding cassette transporter A1 key role in cellular lipid transport and atherosclerosis. *Mol. Cell. Biochem* 2002 Aug; 237 (1-2): 155-64.
- The Expert Panel. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
- The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984; 251: 351-364.
- The Scandinavian Simvastatin Survival Study Group; Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-1389.
- The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998; 339: 1349-1357.
- Thomas Sudhop, MD; Dieter Lütjohann, PhD, MS.; Annette Kodak, MD; Michael Igel, MD; Diane L. Tribble, PhD; Sukrut Shah, PhD; Inna Perevozskaya, PhD; Klaus von Bergmann, MD. Inhibition of Intestinal Cholesterol Absorption by Ezetimibe in Humans. *Circulation* 2002; 106: 1943-1948.
- Van Heek M, France CF, Compton DS et al. In vivo metabolism-based discovery of a potent cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, in the rat and rhesus monkey through the identification of the active metabolite of SCH48461. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 157-163.
- van der Steeg W, Kuivenhoven J, Klerkx A, Boekholdt S, Hovingh G, Kastelein J. Role of CETP inhibitors in the treatment of dyslipidemia. *Curr Opin Lipidol* 2004 Dec; 15(6): 631-636.