

LA LIPEMIA POSTPRANDIALE: DAI RISULTATI SPERIMENTALI ALL'INTERVENTO TERAPEUTICO

Postprandial lipemia: from experimental evidences to therapeutic treatment

Andrea Baragetti

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano e Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo (Milano)

Keywords

Postprandial lipemia
Remnant lipoproteins
Atherogenic dyslipidaemia

Abstract

Elevated non-fasting triglycerides levels and *remnant* lipoprotein cholesterol content are considered independent biomarkers for cardiovascular risk assessment; indeed, genetic approaches on large populations have suggested their causal role in the development of atherosclerotic process, corroborating previous experimental evidences from *in vitro* studies and animal models. On top of data from basic and clinical research, it should be acknowledged that a person spends the majority of its time in postprandial phase; thereby lipid metabolism is a dynamic condition in which enzymatic activities, the structure, the half life and the content of circulating lipoproteins are continuously changing. Indeed, it is largely known that these parameters determine the atherogenicity of the same lipoproteins, which, during postprandial phase, activate key pathways of the atherosclerotic process. The elevated content in triglycerides and cholesterol in circulating lipoproteins, therefore, favor the diagnosis of "atherogenic dyslipidaemia". Considering these aspects, it is easy to understand that this condition is not only significant for the clinical phenotype, but also for the response to pharmacological treatment and, finally, for the cardiovascular risk. Treatments of clinical use for dyslipidaemia are presently fibrates, niacin and omega-3. Both randomized trials and studies of postprandial kinetic confirmed their efficacy, on top of statins, even though contrasting data are not lacking, especially in high-risk patients. New therapeutic perspectives are therefore needed and studies of postprandial phase are useful to understand the physio-pathological mechanisms determining atherogenic dyslipidaemia. In the meanwhile, clinicians can obtain useful information to set more adequate therapies for each patient.

Introduzione

In una review del 2003 Hyson D. et al. definiscono la lipemia post-prandiale (PP) come "una condizione dinamica caratterizzata da un rialzo nei livelli di lipoproteine circolanti ricche in trigliceridi, in seguito all'assunzione di un pasto" e aggiungono che "tutti spendono la maggior parte del loro tempo in questa condizione" [1]. Questa definizione suggerisce come lo studio della lipemia PP e dei meccanismi fisio-patologici ad essa ricollegabili sia d'interesse non soltanto per la ricerca di base ma anche per il medico durante l'impostazione della terapia farmacologica. Infatti, lo studio della lipemia PP non deve considerare il metabolismo lipidico e lipoproteico come un rapporto fisso di colesterolo e trigliceridi tra i vari tessuti, bensì come un dinamico scambio di lipidi in cui si osserva, nel giro di ore nell'arco della giornata, una continua modifica nelle dimensioni e nel contenuto delle lipoproteine, nonché una alterazione nell'attività degli enzimi coinvolti nella loro comunicazione. Differenti fattori possono modulare il metabolismo lipidico di fase postprandiale e, tra questi, sicuramente vanno considerati le scorrette abitudini alimentari [2, 3], l'insulino-resistenza, il diabete mellito [4] e l'obesità [5]; al contempo ulteriori componenti fisio-patologiche e tratti

Corrispondenza: Andrea Baragetti. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari - Università degli Studi di Milano. Via Balzaretti, 9 - 20133 Milano (MI). Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Via Gorki, 50 - 20092 Cinisello Balsamo (Milano)
E-mail: andrea.baragetti@guest.unimi.it

genetici possono contribuire a una differente risposta lipidica postprandiale [6]. Inoltre, nel 1979 Zilvermist postulò che la lipemia postprandiale è un fattore determinante il processo aterosclerotico [7] e incoraggiò, da lì in avanti, sia approcci sperimentali sia osservazioni epidemiologiche volti a confermare che la lipemia postprandiale è un fattore di rischio causale e indipendente per la malattia cardiovascolare. Un recente *consensus statement* della Società Europea di Aterosclerosi (EAS) e della Federazione Europea di Chimica Clinica e Medicina di Laboratorio ha riconosciuto che la lipemia PP integra un complesso spettro di più pattern cardio-metabolici e la determinazione del profilo lipidico non a digiuno può fornire informazioni utili per stimare il rischio individuale della patologia cardiovascolare [8]. Quanto qui riassunto permette al medico di medicina generale, all'internista e al cardiologo, di comprendere la rilevanza clinica della lipemia postprandiale in funzione di una opportuna terapia farmacologica ipolipemizzante.

Evidenze Epidemiologiche

Trigliceridi non a digiuno, colesterolo nelle lipoproteine remnants e rischio cardiovascolare; studi osservazionali e genetici.

Nel 1992 Patsch JR. et al. fornirono la dimostrazione che i pazienti con pregressa malattia cardiaca ischemica o con evidenze angiografiche di aterosclerosi coronarica presentavano un maggior rialzo di trigliceridi rispetto ai soggetti non coronaropatici tra le 4 e le 8 ore successive all'assunzione di un carico orale di lipidi [9], supportando quindi che la lipemia postprandiale rappresenta un fattore di rischio indipendente per la malattia cardiovascolare [10]; questa associazione risulta indipendente dai livelli basali di trigliceridi in quanto anche pazienti non dislipidemicici con pregresso infarto acuto del miocardio mostrano una maggiore lipemia postprandiale [11]. Negli stessi studi, considerando il cambiamento nel contenuto di trigliceridi anche nelle lipoproteine ad alta densità (HDL) [12], l'aumento della trigliceridemia correla positivamente con la quantità di lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) secrete dal fegato e le loro rimanenze (*remnants*) [13], in linea con i dati sperimentali che dimostrano che questa ultima frazione ricca in trigliceridi espleta un elevato potere aterogeno [14].

Queste evidenze sono state successivamente corroborate da osservazioni epidemiologiche su ampie popolazioni di differenti etnie. Infatti in uno studio giapponese che ha incluso oltre 11.000 soggetti, l'aumento di 1 mmol/L di trigliceridi non a digiuno si associava con un rischio di eventi cardiovascolari aumentato del 29% in un follow-up di 15 anni [15]; un risultato simile, esteso al rischio di infarto acuto del miocardio e della mortalità totale, era stato riscontrato dallo studio danese del *Copenhagen General Population Study* (oltre 13.000 soggetti, follow-up di 27 anni), stratificando anche per livelli di colesterolo totale, colesterolo HDL e per genere [16]. È da notare che l'associazione trovata in questi studi era dose-dipendente: in particolare, nei soggetti con trigliceridemia non a digiuno superiore alle 5 mmol/L (>440 mg/dL) il rischio di infarto acuto del miocardio era aumentato di circa 17 volte nelle donne e di 5 volte negli uomini, se paragonati con i soggetti con trigliceridemia inferiore a 1 mmol/L (88 mg/dL); aumenti simili erano indicati per il rischio di mortalità per tutte le cause.

Nel 2009 un consorzio di più popolazioni ha fornito dati congiunti su oltre 300.000 soggetti che confermavano i dati delle osservazioni sopra citate circa il ruolo predittivo della trigliceridemia non a digiuno [17]. E' da sottolineare che queste associazioni venivano soltanto attenuate se aggiustate per i livelli di colesterolemia HDL mentre diventavano non statisticamente significative quando l'analisi veniva controllata per i livelli di colesterolo contenuto nelle lipoproteine non-HDL [17], suggerendo che il rischio di malattia cardiovascolare non aumenta in funzione dell'elevata trigliceridemia per sé, ma per elevati valori di colesterolo contenuto nei *remnants* ricchi in apoB. Precedenti osservazioni che dimostravano come il 62% del contenuto di trigliceridi nelle varie lipoproteine è trasportato da quelle a densità intermedia (IDL, 1063-1019 kg/L) e nelle LDL di maggior dimensioni (1019-1034 kg/L), hanno anche correlato queste frazioni con il grado di aterosclerosi coronarica, corroborando quanto sopra riportato [18]. Questi dati sono stati successivamente confermati nelle due popolazioni danesi del *Copenhagen General Population Study* e del *Copenhagen City Heart Study*, ottenendo il dato di "colesterolo non-HDL" per ogni soggetto sottraendo dal valore di colesterolemia totale la colesterolemia HDL [19] e ribadendo la forte correlazione con la trigliceridemia [20]. La formula proposta da questi studi rappresenta una deduzio-

ne semplicistica e non sono da escludere sue deviazioni dal valore reale; Va infatti notato che il colesterolo non-HDL così calcolato non riflette il quadro dinamico di fase post-prandiale e la distribuzione dei trigliceridi tra chilomicroni, VLDL e rispettivi *remnants* [21]. Negli stessi studi, tuttavia, elevati livelli di colesterolo contenuto nei *remnants* si associavano a un maggiore rischio di malattia ischemica cardiovascolare e, al contempo, a elevati livelli di marcatori infiammatori (proteina C-reattiva) [20], suggerendo che le lipoproteine *remnants* ricche in trigliceridi sono causali per l'aterosclerosi attraverso meccanismi differenti da quelli mediati dalle lipoproteine LDL ricche in colesterolo [22].

Le evidenze epidemiologiche inferiscono un ruolo associativo della lipemia postprandiale con la malattia cardiovascolare e, nel corso degli anni, si è progressivamente sviluppata l'idea di utilizzare approcci genetici per testarne la rilevanza causale [23]. In particolare, l'approccio più utilizzato è stato quello di "randomizzare" i soggetti di una popolazione in portatori e non portatori di varianti su geni candidati per la codifica di mediatori rilevanti nel metabolismo delle lipoproteine; la necessità di questo approccio è che le varianti non siano co-segreganti con altre, così da poter essere testate come singoli determinanti genici, in conformità a quanto proposto dalle leggi mendeliane. Da qui, si è sviluppato nel tempo il concetto di "randomizzazione mendeliana", diverso dall'approccio epidemiologico osservazionale; infatti se l'obiettivo di quest'ultimo è quello di testare l'associazione tra il biomarcatore (nel caso presente, la trigliceridemia a digiuno) e la malattia non potendo escludere l'effetto di causalità inversa, la randomizzazione mendeliana è volta a scandagliare le varianti geniche determinanti indipendentemente (in quanto non in *linkage disequilibrium* tra loro) sia i livelli del biomarcatore sia il rischio di malattia [24]. Lo studio di randomizzazione mendeliana simula il trial randomizzato farmacologico, segregando due bracci di valutazione rappresentati dai soggetti portatori e quelli non portatori della variante in esame; in questo modo, questo approccio può essere considerato uno strumento utile per la razionalizzazione dell'intervento farmacologico [22]. In area cardiovascolare sono state fornite prove tangibili di quanto appena detto, se si considera che la colesterolemia LDL si riduceva del 12% nello studio IMPROVE-IT [25] traducendosi in una riduzione del 6% del rischio cardiovascolare in 7 anni, mentre una simile riduzione nella colesterolemia LDL indotta da mutazioni *loss-of function* sul gene *Nieman-Pick C1 Protein Like-1 (NPC1L1)* portava al dimezzamento dello stesso sin dalla nascita [26].

Applicando questo approccio nel contesto della lipemia postprandiale e delle lipoproteine ricche in trigliceridi, differenti studi hanno selezionato nella selezione dei geni candidati, fornendo prove volte a sostenere un ruolo causale della trigliceridemia non a digiuno per il rischio di infarto acuto del miocardio. Ad esempio, mutazioni sul gene *APOA5* che causano perdita di funzione (*loss-of-function*) dell'apolipoproteina A-V (deputata a modulare l'attività della lipoproteina lipasi, LPL e facilitare l'uptake epatico dei lipidi dei *remnants*), portano ad un aumento del 60% della trigliceridemia non a digiuno e a un aumentato rischio (dell'80% circa) di infarto acuto del miocardio [27]; al contempo, l'aumento geneticamente determinato (15 geni candidati) di 40 mg/dL di colesterolo contenuto nei *remnants* predice un aumento di oltre il 120% per il rischio di infarto acuto del miocardio [28, 29]. Seppur questi dati numerici non riflettano sempre il reale quadro clinico che spesso il medico di medicina generale o il cardiologo si trovano ad affrontare, essi forniscono utili informazioni nella scelta dell'approccio farmacologico. In questa direzione, i dati epidemiologici e farmacogenetici in continua evoluzione vanno integrati con le robuste evidenze sperimentali che rendono ragione del ruolo causale della trigliceridemia a digiuno e delle lipoproteine che la veicolano nell'ambito del processo aterosclerotico.

Le lipoproteine e il metabolismo lipidico di fase post-prandiale

Considerazioni biochimiche e fisiopatologiche della lipemia di fase post-prandiale.

Nel corso degli anni, le evidenze sperimentali hanno coinvolto sia approcci in vitro sia approcci in vivo sull'animale e sull'uomo [22]. In seguito al consumo di un pasto ricco di lipidi, aumenta la quota di chilomicroni di origine intestinale, i quali veicolano nel plesso ematico i grassi esogeni, distribuendoli al tessuto adiposo e al muscolo per interazione con la lipasi lipoproteica (LPL), comune substrato delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TGRL) di origine endogena (VLDL e IDL) (**Figura 1**); studi di

cinetica (attraverso studi di cinetica utilizzando lipoproteine incorporate con opportuni radiotraccianti) hanno dimostrato che i chilomicroni *per se* mostrano una maggiore affinità rispetto alle VLDL per LPL e che questa differenza è ancora più marcata in fase PP [30]; questa considerazione permette di comprendere l'aumentata emivita plasmatica delle TGRL endogene [31]. Al contempo, l'alterata attività di mediatori enzimatici rilevanti per il metabolismo lipidico, come la lipasi epatica e della Proteina di Trasferimento del Colesterolo Esterificato (CETP) [32], induce un cambiamento nel contenuto lipidico delle TGRL endogene, le quali diventano più ricche in colesterolo oltre ad assumere ridotte dimensioni (**Figura 1**). Nel paziente dislipidemico, questi processi biochimici sono ancora più evidenti, in quanto le TGRL di soggetti dislipidemici di tipo IIb mostrano, tra 2 e 6 ore successive al consumo di un carico orale ricco di lipidi, un quantitativo maggiore di colesterolo rispetto a quelle estratte da soggetti normolipemici [33]; in generale nel soggetto dislipidemico IIb, se i chilomicroni rappresentano i principali trasportatori dei trigliceridi ematici (fino anche a 8 ore dal carico orale di lipidi), le TGRL endogene sono le lipoproteine più numerose e di minori dimensioni [33].

Le dimensioni delle lipoproteine rappresentano un parametro rilevante per la comprensione della loro aterogenicità [34, 35]. Infatti, si è andata sempre più delineando l'idea che le lipoproteine di minori dimensioni (LDL e *remnants* delle TGRL endogene) siano al contempo quelle a più alto potere aterogeno, ovvero mostrino una maggiore capacità di penetrare attraverso lo strato intimo arterioso, se confrontate con le lipoproteine TGRL di maggiori dimensioni (chilomicroni e VLDL) (**Figura 1**). La prova clinica di questa ipotesi viene fornita dall'osservazione che i pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare sia di natura eterozigote sia omozigote (in cui osserviamo livelli di colesterolo LDL superiori al 90mo percentile rispetto al valore mediano della popolazione generale) hanno un elevato rischio di aterosclerosi coronarica; questa osservazione non si riscontra nei pazienti affetti da iperchilomicronemia familiare, seppur con livelli di trigliceridi a digiuno mediamente superiori a 1000 mg/dL [36, 37]. Queste osservazioni sono state comprovate da modelli sperimentali nel coniglio verso gli inizi degli anni '90 [38, 39] e dettagliate caratterizzazioni della componente proteica delle lipoproteine LDL hanno confermato come questa rimanga "intrappolata" alla matrice extracellulare delle pareti arteriose [40, 41]. I *remnants* delle lipoproteine ricche in trigliceridi, di dimensioni ridotte rispetto ai loro precursori, mostrano una simile capacità di penetrare nell'intima ma una maggiore affinità per la struttura di proteoglicani, così da essere maggiormente ritenuti [14, 42-44] (**Figura 1**). Subendo l'azione della LPL, queste lipoproteine rilasciano acidi grassi liberi e monoacilgliceroli *in situ* e nei macrofagi [45, 46], favorendo l'attivazione del fenomeno infiammatorio associato con la patogenesi dell'aterosclerosi (almeno da evidenze sperimentali) [7, 35, 47]. Ulteriori studi *in vitro* su cellule endoteliali di cordone ombelicale (HUVEC) hanno corroborato l'aterogenicità delle TGRL endogene le quali, a 4 ore da un carico orale ricco di lipidi, attivano in soggetti ipertrigliceridemici l'espressione di membrane di molecole di adesione e l'espressione genica di mediatori pro-infiammatori in questa linea cellulare [48].

Parallelamente alle modificazioni ossidative delle LDL e alla loro interazione con le cellule dendritiche e macrofagi all'interno della placca ateromatosa [49], le TGRL modificate sia nella struttura sia nelle dimensioni attivano la risposta immunitaria innata, in quanto capaci di interagire con differenti recettori espressi sulla membrana delle cellule macrofagiche [50-52] (**Figura 1**). Tuttavia, la rimozione di lipoproteine LDL in circolo attraverso aferesi in pazienti ipercolesterolemici permette una significativa riduzione nel grado di infiammazione arteriosa, indicata da un ridotto assorbimento locale di ^{18}F fluorodesossiglucosio (valutato tramite tomografia a emissione di positroni, PET) [53], confermando che l'accumulo di lipoproteine LDL nelle pareti vascolari causa lo sviluppo del fenomeno aterosclerotico attraverso meccanismi infiammatori [54]. Ad oggi non vi sono similari dimostrazioni per le TGRL nell'uomo, sebbene modelli *in vitro* indichino che l'esposizione a stimoli pro-aterogeni induce una riprogrammazione nell'epigenoma di cellule mieloidi le quali, circolanti, evocano una continua sovra-attivazione del sistema immunitario [55, 56], supportando l'attività pro-infiammatoria sistemica anche di questa frazione lipoproteica. L'osservazione che rimane ad ogni modo chiara

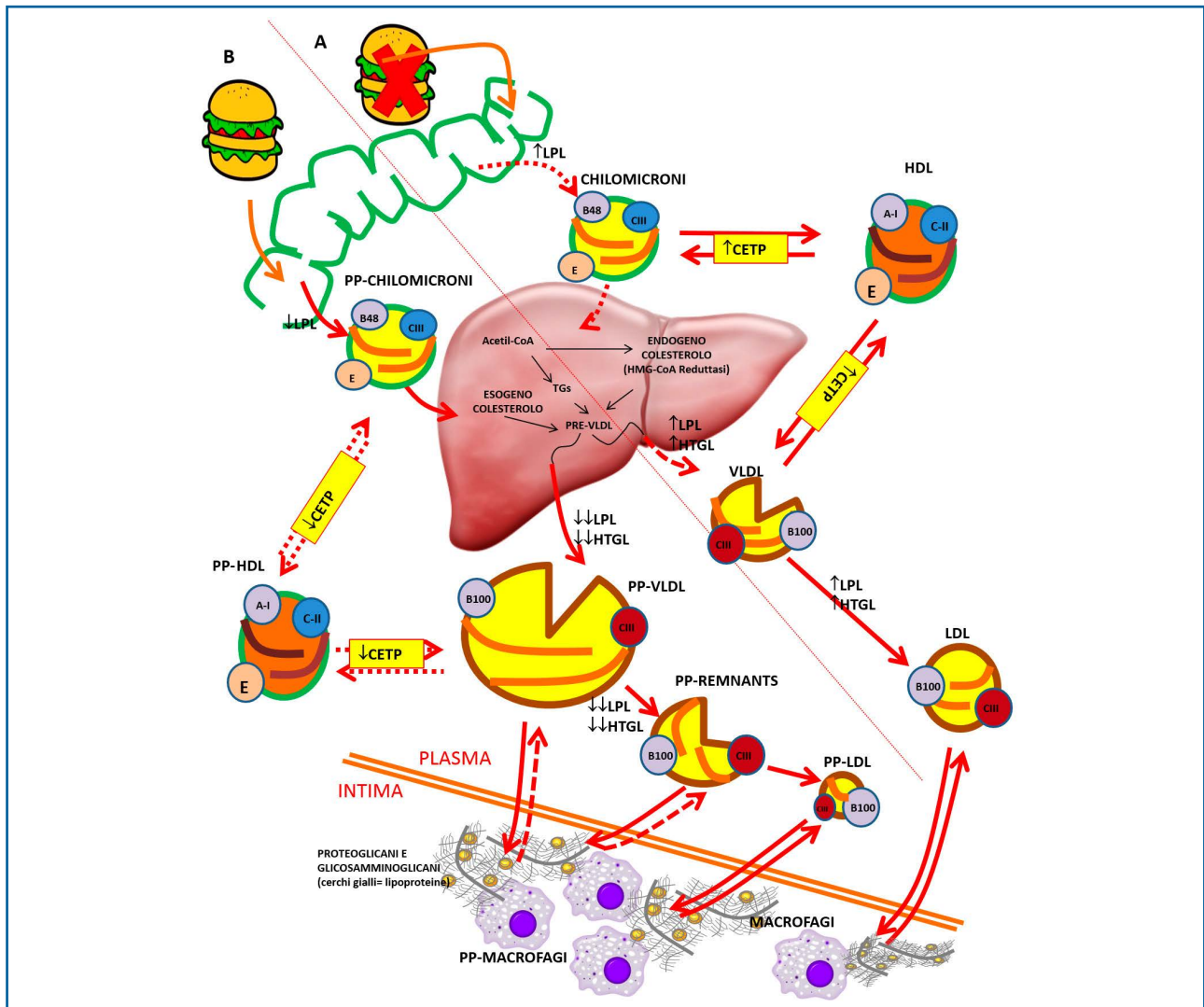


Figura 1 Metabolismo e aterogenicità delle lipoproteine a digiuno e in fase postprandiale.

In figura vengono schematizzati (e separati dalla linea diagonale rossa) il **(A)** metabolismo a digiuno e il **(B)** metabolismo di fase postprandiale.

(A) A digiuno, o in condizioni di ridotto carico esogeno di lipidi, viene meno la sintesi intestinale dei chilomicroni, le lipoproteine che portano in superficie l'Apolipoproteina B-48 e, in circolo, la LPL distribuisce efficientemente trigliceridi e acidi grassi nei tessuti periferici (tessuto adiposo e muscolo). Dal fegato vengono sintetizzati fisiologici livelli di VLDL, partendo dai loro precursori (Pre-VLDL), che vengono "impacchettati" di trigliceridi e colesterolo (sia di origine esogena sia di origine endogena); le VLDL portano sulla loro superficie l'Apolipoproteina B-100 che permette il loro riconoscimento e la loro interazione con i relativi recettori nella circolazione sistemica e nei tessuti periferici e nel fegato. Le VLDL subiscono efficacemente l'azione della LPL e della HTGL, riducendo così le loro dimensioni e il loro contenuto fino a diventare lipoproteine LDL.

(B) In seguito al consumo di un pasto ricco di grassi (in particolare se in condizioni di dislipidemia), l'intestino aumenta la produzione di chilomicroni (di aumentate dimensioni rispetto ad **(A)** e a maggiore contenuto lipidico); questi subiscono in misura minore (rispetto ad **(A)**) l'azione della LPL, la quale riduce la sua attività in fase postprandiale. Al contempo, il fegato produce una maggiore quantità di VLDL di fase postprandiale (PP-VLDL), anch'esse di maggiori dimensioni e con un superiore quantitativo di lipidi (rispetto ad **(A)**). L'inibita attività enzimatica (vedasi la HTGL) e il ridotto scambio di trigliceridi/esteri del colesterolo con la frazione PP-HDL (per ridotta attività della CETP), rispetto ad **(A)**, permette una maggiore emivita delle PP-VLDL e dei loro *remnants* (PP-REMNANTS).

Queste modificazioni biochimiche delle lipoproteine di fase postprandiale (rispetto alle relative a digiuno) rendono ragione di una differente aterogenicità; le PP-VLDL, le PP-REMNANTS e le PP-LDL entrano con maggiore facilità nell'intima dei vasi arteriosi e interagiscono con la matrice di proteoglicani e glicosaminoglicani in misura maggiore rispetto alle LDL a digiuno. Questo permette una loro maggiore ritenzione (freccie di ritorno tratteggiate) nell'intima, subendo maggiormente l'azione dei macrofagi e cellule del sistema immunitario e attivando così la cascata dei meccanismi alla base del processo aterosclerotico.

A-I= apolipoproteina A-I; E= Apolipoproteina E; CII= Apolipoproteina CII; CIII= Apolipoproteina CIII
HMG-CoA reduttasi= Idrossimetil, glutaril-CoA reduttasi; CETP= Cholesteryl-Ester Transfer Protein; HTGL= lipasi epatica dei trigliceridi; LPL= Lipoproteina Lipasi.

Frecce nere in alto= aumento attività enzimatica; Frecce nere in basso= riduzione attività enzimatica; frecce rosse tratteggiate meccanismo/trasferimento/spostamento attivo; frecce rosse tratteggiate meccanismo/trasferimento/spostamento inibito

in ambito clinico è che i pazienti con disbetalipoproteinemia con elevati livelli di apolipoproteina E (ApoE) e di TGRL mostrano estesa aterosclerosi prematura e un elevato rischio cardiovascolare [57] e ancor più se con ridotti livelli di colesterolo HDL [58], sottolineando la rilevanza di questa combinazione lipidica nello sviluppo del processo aterosclerotico. Queste osservazioni hanno permesso di utilizzare la definizione di “dislipidemia aterogena”, comunemente accettata dalle Linee Guida Internazionali [58]. Considerando assieme queste evidenze, risulta chiara la necessità di contenere il potenziale aterogeno delle lipoproteine non a digiuno o, per lo meno delle TGRL. La valutazione della lipemia postprandiale, pertanto, è di aiuto per il medico per traslare la rilevanza delle TGRL nel metabolismo lipidico del singolo paziente e per stimarne il rischio cardiovascolare. Sono, ad ogni modo, necessarie ulteriori valutazioni per definire l'appropriata terapia in funzione dello specifico quadro clinico.

La lipemia postprandiale e la dislipidemia aterogena: trattamenti farmacologici

Riduzione della trigliceridemia non a digiuno e delle lipoproteine remnants: efficacia farmacologica

Numerose investigazioni osservazionali e studi randomizzati hanno valutato l'efficacia delle terapie oggi disponibili nel ridurre i livelli di TGRL. A tal proposito è utile considerare alcune recenti osservazioni dedotte dai dati provenienti da diverse popolazioni. Infatti i dati dell'*Emerging Risk Factors Collaboration* [17], replicati successivamente nella popolazione danese del *Copenhagen City Heart Study* [59], evidenziano che l'aumentata trigliceridemia e l'aumentato colesterolo non-HDL si associano a un elevato rischio di eventi cardiovascolari, se congiunti con ridotti livelli di colesterolo HDL; è da sottolineare che questa associazione sia indipendente dai livelli di colesterolo LDL. Quest'ultima considerazione suggerisce che la riduzione delle TGRL e l'aumento del colesterolo HDL sia rilevante per la riduzione del rischio cardiovascolare, indecentemente dal controllo della colesterolemia LDL [58].

Sebbene sia noto che il trattamento con statine permetta una riduzione del rischio cardiovascolare linearmente con la riduzione della colesterolemia LDL [60], meta-regressioni di più trial condotti su ampie coorti indicano che questo beneficio è maggiore in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare (prevenzione secondaria e diabete), in cui si riscontrano anche elevati livelli di TGRL e ridotti livelli di colesterolo HDL [61, 62]. Nello studio TNT [63] e in una recente metanalisi condotta su oltre 170.000 soggetti [64], ridotti livelli di colesterolo HDL si associavano a un aumento rischio di eventi cardio-coronarici anche in pazienti a target per i livelli di LDL (<70 mg/dL, secondo linee guida per pazienti ad alto rischio cardiovascolare [65]). Allo stesso tempo, diversi trial di intervento hanno sottolineato che la riduzione della trigliceridemia e del colesterolo non-HDL siano di beneficio per la riduzione degli eventi cardiovascolari in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare [66-68]; in particolare, dagli studi TNT e IDEAL è chiaro che la riduzione della trigliceridemia, associata all'aumento della colesterolemia HDL [68], ma non quella LDL, permetteva una riduzione del rischio di eventi cardio-coronarici dal 30% al 70% (specialmente in pazienti in prevenzione secondaria [66], e in pazienti diabetici [69, 70]).

Considerando questi dati congiunti, risulta evidente che sebbene la riduzione della colesterolemia LDL sia prioritaria per il contenimento del rischio cardiovascolare, la dislipidemia aterogena (intesa come ridotta colesterolemia HDL e elevata trigliceridemia associata ad aumentati livelli di lipoproteine *remnants*) sembra essere un rilevante target terapeutico [58].

Ad oggi sono disponibili differenti approcci volti a ridurre la trigliceridemia e le lipoproteine *remnants*; questi comprendono l'intervento sullo stile di vita, ancor prima del trattamento farmacologico. Dal punto di vista fisio-patologico, infatti, l'attività fisica e la riduzione nel consumo di grassi saturi dalla dieta permettono un controllo della sensibilità all'insulina e un miglior *management* dei lipidi intracellulari, specialmente a livello degli epatociti, principali *player* del metabolismo delle TGRL [71]; Questo si traduce in una riduzione nella sintesi epatica di VLDL ricche in trigliceridi [72, 73] e una loro aumentata clearance [74]. Tuttavia, la spesso ridotta aderenza ai consigli sullo stile di vita rende difficoltoso l'apprezzamento clinico dell'effetto di questi tentativi; pertanto, il trattamento farmacologico rappresenta un *tool* addizionale nel trattamento della dislipidemia aterogena, ancor più se in pazienti ad alto rischio cardiovascolare e/o in prevenzione secondaria [58].

Le statine riducono la trigliceridemia in pazienti affetti da ipertrigliceridemia moderata ed è stata dimostrata una relazione tra la potenza del principio attivo all'interno della classe e la riduzione dei trigliceridi circolanti [75]. Tuttavia, questo beneficio non si osserva nei casi di ipertrigliceridemie severe, a dimostrazione della ridotta capacità di questi principi attivi nel contrastare il metabolismo dei chilomicroni e delle lipoproteine VLDL a densità più bassa [35]. Le attuali Linee Guida della Società Europea di Aterosclerosi, pertanto, non raccomandano l'utilizzo della statina in monoterapia per il trattamento della dislipidemia aterogena, bensì l'utilizzo, anche in associazione, di altri principi attivi che hanno dimostrato una maggiore efficacia nel ridurre i livelli di TRGL [58]. Ad oggi, quindi, vi sono tre classi di principi attivi che hanno mostrato efficacia nel ridurre le TGRL in diversi trial clinici: i fibrati (agonisti di PPAR- α), la niacina e gli omega-3.

Fibrati

I fibrati, agendo come agonisti dei recettori intracellulari PPAR- α , aumentano l'espressione di enzimi (quali la Acil-CoA Sintasi e la LPL) e proteine che costituiscono le HDL di produzione epatica (ApoA-I, ApoA-II), mentre riducono quella di componenti delle VLDL (ApoCIII); questo effetto risulta in una ridotta sintesi di lipidi, una diminuzione nella escrezione delle TGRL e una loro maggiore trasformazione a LDL in circolo [76, 77].

La terapia di combinazione dei fibrati (fenofibrato) con una statina permette un aumento fino al 20% dei livelli di HDL e una riduzione antiparallela dei trigliceridi, se confrontata con la monoterapia con statina, suggerendo un significativo effetto dei fibrati nel contenimento dei livelli di TGRL circolanti; questo è stato osservato non soltanto in pazienti dislipidemici IIb [78] ma anche in pazienti diabetici di tipo II [70, 79]. In studi di cinetica, valutando l'effetto di un carico orale ricco di lipidi sulla lipemia nelle 8 ore successive, la terapia con Bezafibrato 400 mg/die in pazienti con sindrome metabolica [80] e quella con fenofibrato 150 mg/die in pazienti diabetici [81] permetteva non soltanto una riduzione della concentrazione di colesterolo e trigliceridi nei chilomicroni e VLDL, ma anche dei livelli di apolipoproteina B-100 (apoB100) e apolipoproteina B-48 (apoB48), sottolineando che la terapia con fibrato riesce a normalizzare non solo il contenuto ma anche la quantità di lipoproteine aterogene in circolo [80]. Negli stessi studi, il trattamento con fibrati garantiva una minore riduzione della reattività vascolare endotelio-dipendente (valutata attraverso *Flow-Mediated Dilation*, FMD) [80], anche attraverso il silenziamento dell'espressione genica di mediatori pro-infiammatori oltre alla riduzione della produzione di VLDL [82]. Insieme questi dati corroborano le evidenze di ulteriori studi osservazionali che dimostrano un significativo effetto del fibrato non soltanto nella riduzione della progressione dell'aterosclerosi subclinica [83], ma anche nel controllo del rischio cardiovascolare [58], dal 10 al 35% in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare [84] e/o in prevenzione secondaria [85].

Il trattamento con fibrato non rimane, ad ogni modo, scevro di effetti collaterali [58]; tra questi, senza dubbio, vi sono le miopatie, specialmente in terapie associazione con statina (anche se non riscontrato in tutti i trial [70, 79]). I restanti eventi avversi riportati da alcuni trial, quali il rialzo di creatinemia [70], di omocisteina [86] e del rischio (a lungo termine) di coelitiasi [87] rimangono spesso effetti "cosmetici" e la loro rilevanza clinica risulta ancora dubbia.

Niacina

L'effetto ipolipemizzante della niacina non è ad oggi ancora del tutto chiarito e il meccanismo d'azione del principio attivo coinvolge differenti aspetti, dalla riduzione della sintesi di VLDL all'inibizione della lipasi dei trigliceridi ormone-sensibile nel tessuto adiposo e al controllo dell'attività della CETP [58]. Non vanno dimenticati gli effetti collaterali del principio attivo, tra cui il flushing cutaneo e la nausea, e sono stati documentati casi di epatotossicità e miotossicità, che necessitano ulteriori approfondimenti [58]. Al fine di ridurre l'insorgenza di questi eventi avversi, sono state proposte forme farmaceutiche a rilascio prolungato di acido nicotinico oppure associazioni con antagonisti del recettore delle prostaglandine D₂ (in particolare laropiprant). Considerando tutti questi aspetti, i trial clinici ad oggi disponibili hanno confermato

che l'utilizzo di niacina aumenta l'effetto ipolipemizzante della statina quando in terapia di associazione, portando a ulteriori riduzioni del 20% nei livelli di LDL e del 35% in quelli di trigliceridi rispetto alla monoterapia, in pazienti dislipidemicici di tipo IIb [58, 88-90].

In seguito all'ingestione di un carico orale ricco di lipidi, la formulazione a rilascio prolungato di niacina/loropirant 2g/die permette una riduzione del 33% nell'area sotto la curva (AUC) della trigliceridemia plasmatica e del 20% nei livelli di acidi grassi liberi rispetto al placebo [91]. Studi con traccianti radio-marcati hanno osservato una significativa riduzione nella quantità di TGRL circolanti, dato che lo stesso trattamento permette una riduzione dei livelli circolanti ai ApoB (dimezzati nelle frazioni VLDL e di circa il 40% nei loro *remnants*) [92]; questi effetti si associano, tuttavia, a un impatto ancora da definire sul metabolismo glucidico in pazienti diabetici [92] e in donne con sindrome dell'ovaio policistico [93]. È, infatti, da ricordare che negli studi ADMIT e ADVENT è stato riscontrato un effetto deleterio sui livelli di glicemia e un aumento dell'insulino-resistenza nei pazienti trattati con acido nicotinico [94, 95].

Gli effetti contrastanti qui riassunti in merito al trattamento con acido nicotinico possono ad ogni modo essere di interesse nel comprendere la relazione tra il metabolismo lipidico e glucidico in fase acuta postprandiale in particolari *setting* metabolici come quello della dislipidemia aterogena [96].

Omega-3

Dal punto di vista farmacologico, gli omega-3 mostrano una robusta attività ipolipemizzante che comporta un effetto a più livelli: dal controllo nella sintesi delle VLDL epatiche e loro aumentata conversione in LDL alla regolazione nella trascrizione di enzimi come PPAR- α e SREBP-1c [58]. Considerando questo aspetto, nelle ipertrigliceridemie severe il trattamento con omega-3 si è dimostrato efficace nel ridurre fino al 30% la trigliceridemia e la concentrazione di colesterolo non-HDL, come evinto dallo studio EVOLVE, condotto su pazienti con livelli di trigliceridi basali superiori a 500 mg/dL [97].

Tuttavia, i trial osservazionali condotti su pazienti dislipidemicici IIb o in ipertrigliceridemicici moderati hanno fornito risultati contrastanti e, ad oggi, risulta poco chiaro il beneficio di questi principi attivi, comunque non considerati nel trattamento in monoterapia di questo *pool* di pazienti [58]. Lo studio spagnolo PREDIMED, condotto su soggetti a medio e ad alto rischio cardiovascolare in prevenzione primaria, ha mostrato come l'apporto (sebbene a dosaggi elevati) di acidi grassi polinsaturi nella dieta permetta una riduzione del 10% sia dei *remnants* delle TGRL sia delle LDL piccole e dense [98]; sono disponibili risultati simili [99], sebbene non manchino dati contrastanti [100]. Al contempo, l'utilizzo dell'omega-3 non ha fornito risultati convincenti per la riduzione del rischio cardiovascolare sia in soggetti in prevenzione primaria sia in pazienti con pregresso evento cardiovascolare [101], malgrado quanto proposto precedentemente dallo studio GISSI-Prevenzione [102] utilizzando dosaggi non sufficienti per una decisiva riduzione della trigliceridemia, scoraggiando l'utilizzo di questi farmaci come prima scelta in pazienti dislipidemicici. L'utilizzo dell'omega-3 anche aggiunto alla terapia con statina non ha altresì fornito un benefit in termini di riduzione del rischio di eventi in pazienti diabetici di tipo 2 [103].

Studi di fase postprandiale sono stati condotti al fine di valutare il potenziale effetto del trattamento con fibrati, benché i risultati non siano propensi a sostenere una convincente riduzione della trigliceridemia postprandiale [104, 105] e benché rimanga spesso critico il dosaggio considerato. Ulteriori investigazioni, su più ampi numeri di pazienti con differenti fenotipi clinici, sono attese per maggiori approfondimenti.

Conclusioni

I dati recenti provenienti dagli approcci sperimentali, dalle osservazioni epidemiologiche e dalle valutazioni cinetiche della lipemia postprandiale dimostrano la rilevanza degli elevati livelli di TGRL per la stratificazione del rischio cardiovascolare; inoltre, le investigazioni genetiche suggeriscono anche un loro ruolo causale nello sviluppo del processo aterosclerotico [22]. Escludendo le ipertrigliceridemie severe, gli elevati livelli di TGRL si associano spesso a ridotti livelli di colesterolo HDL delineando il

quadro di dislipidemia aterogena, la quale accompagna, a sua volta, diverse condizioni (per esempio il diabete di tipo 2) associate a un elevato rischio cardiovascolare [35]. La rilevanza epidemiologica di questo fenotipo è notevole [106-108] e non tutti questi pazienti traggono beneficio dalle terapie presenti oggi sul mercato, rispetto al target prefissato dalle Linee Guida [22, 58]. Ad oggi i fibrati rappresentano la classe più efficace, benché in pazienti con diabete di tipo 2 la riduzione del 20% della trigliceridemia a 5 anni non si associ a una significativa riduzione del rischio di eventi cardiovascolari, nemmeno stratificando i pazienti per livelli di colesterolo HDL [70]. Risulta, pertanto, evidente la necessità di sviluppare terapie farmacologiche più efficaci per la parallela riduzione dei livelli di TGRL e del rischio cardiovascolare.

A tal fine, l'attuale approccio della ricerca clinica è quello di avvalersi degli studi di randomizzazione mendeliana al fine di individuare i *pathways* metabolici più rilevanti per impostare un bersaglio farmacologico [22]. Ad oggi meccanismi specifici, provenienti dagli studi genetici, che aumentano i livelli di TGRL e influenzano il rischio di sviluppare eventi cardiovascolari includono mutazioni con perdita di funzione (“*loss of function*”) per *LPL* e per *APOA5*, oppure quelle con aumento di funzione (“*gain of function*”) per *APOC3* e *ANGPTL4* (rispettivamente codificanti per la apolipoproteina CIII e per la proteina Angiopoietin-like 4, inibitori della LPL) [35]. Considerando, ad esempio, il caso di *APOC3*, al contrario, mutazioni *loss of function* che portano a significative riduzioni delle TGRL e del rischio di eventi cardio-coronarici [109, 110] hanno posto le basi per razionalizzare il trattamento con inibitori antisenso per la sintesi di apoCIII. Questi adottati legano l'addotto di mRNA per apoCIII e ne facilitano la degradazione intracellulare, portando a significative riduzioni dei livelli di trigliceridi plasmatici e di quelli contenuti nelle VLDL e loro *remnants* in pazienti con iperchilomicronemia familiare (secondaria a mutazioni sul gene per codificante per LPL) [111]. Avendo questi approcci trovato poco riscontro in particolari fenotipi di dislipidemia, ulteriori osservazioni vengono dedotte dai trial clinici oggi in sviluppo su altri *compound* farmacologici; alcuni di questi sono quelli condotti sugli anticorpi monoclonali antagonisti per PCSK9 (*Pro-protein ConvertaseSubtilisin Kexin type-9*, proteina che facilita la degradazione del recettore delle LDL, sfavorendo la sua espressione sulla membrana cellulare). Le riduzioni nei livelli di TGRL e colesterolo non-HDL osservate nei recenti trial clinici con anticorpi monoclonali [112], congiunte con evidenze sperimentali (in vitro e nell'animale) volte a dimostrare che la PCSK9 giochi un ruolo rilevante nella produzione e catabolismo delle TGRL [113-115], suggeriscono che futuri studi di cinetica del metabolismo lipidico postprandiale sono richiesti per approfondire questo aspetto.

Nell'attesa di risultati futuri volti ad aprire la strada a nuove strategie terapeutiche, al momento risulta necessaria la collaborazione tra i medici di varie specializzazioni al fine di definire il preciso quadro clinico e garantire la migliore risposta del paziente ai trattamenti oggi disponibili.

DEFINIZIONI

Lipoproteine ricche in trigliceridi (TGRL) = Si definiscono TGRL tutte le lipoproteine ad alto contenuto di trigliceridi; pertanto in questa definizione rientrano i chilomicroni, le VLDL e i loro *remnants*.

Remnants = Si definiscono *remnants* le lipoproteine “rimanenze” delle TGRL in seguito alla interazione di queste ultime con la lipoproteina lipasi (LPL) ed altri enzimi lipolitici. Questo gruppo comprende le lipoproteine ricche in trigliceridi rimanenze dei chilomicroni, le lipoproteine a densità intermedia (IDL) e tutte le loro sottofrazioni. In studi epidemiologici essi vengono approssimati con questo calcolo: Remnants = Colesterolo Totale - LDL-C - HDL-C.

Colesterolo “non-HDL” = Si definisce Colesterolo non-HDL la frazione di colesterolo contenuta in tutte le lipoproteine, escluse le frazioni HDL. In studi epidemiologici esso viene generalmente calcolato come: Colesterolo non-HDL= Colesterolo Totale - HDL-C.

Bibliografia

- [1] Hyson D, Rutledge JC, Berglund L. Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2003; 5: 437-444.
- [2] De Natale C, Annuzzi G, Bozzetto L, et al. Effects of a plant-based high-carbohydrate/high-fiber diet versus high-monounsaturated fat/low-carbohydrate diet on postprandial lipids in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2009; 32: 2168-2173.
- [3] Hector AJ, Marcotte GR, Churchward-Venne TA, et al. Whey protein supplementation preserves postprandial myofibrillar protein synthesis during short-term energy restriction in overweight and obese adults. *J Nutr.* 2015; 145: 246-252.
- [4] Annuzzi G, De Natale C, Iovine C, et al. Insulin resistance is independently associated with postprandial alterations of triglyceride-rich lipoproteins in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24: 2397-2402.
- [5] Costabile G, Annuzzi G, Di Marino L, et al. Fasting and post-prandial adipose tissue lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in obesity and type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest.* 2011; 34: e110-4.
- [6] Breslow JL. Genetics of lipoprotein disorders. *Circulation.* 1993; 87 (Suppl. 4): III16-21.
- [7] Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation.* 1979; 60: 473-485.
- [8] Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, et al. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J.* 2016.
- [9] Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12:1336-1345.
- [10] Hopkins PN, Wu LL, Hunt SC, Brinton EA. Plasma triglycerides and type III hyperlipidemia are independently associated with premature familial coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 45: 1003-1012.
- [11] Bjorkegren J, Boquist S, Samnegard A, et al. Accumulation of apolipoprotein C-I-rich and cholesterol-rich VLDL remnants during exaggerated postprandial triglyceridemia in normolipidemic patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2000; 101: 227-230.
- [12] Karpe F, Bard JM, Steiner G, et al. HDLs and alimentary lipemia. Studies in men with previous myocardial infarction at a young age. *Arterioscler Thromb.* 1993; 13: 11-22.
- [13] Karpe F, Hellenius ML, Hamsten A. Differences in postprandial concentrations of very-low-density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. *Metabolism.* 1999; 48: 301-307.
- [14] Rapp JH, Lespine A, Hamilton RL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14: 1767-1774.
- [15] Iso H, Naito Y, Sato S, et al. Serum triglycerides and risk of coronary heart disease among Japanese men and women. *Am J Epidemiol.* 2001; 153: 490-499.
- [16] Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA.* 2007; 298: 299-308.
- [17] Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA.* 2009; 302: 1993-2000.
- [18] Marz W, Scharnagl H, Winkler K, et al. Low-density lipoprotein triglycerides associated with low-grade systemic inflammation, adhesion molecules, and angiographic coronary artery disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Circulation.* 2004; 110: 3068-3074.
- [19] Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet.* 2014; 384: 626-635.
- [20] Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated remnant cholesterol causes both low-grade inflammation and ischemic heart disease, whereas elevated low-density lipoprotein cholesterol causes ischemic heart disease without inflammation. *Circulation.* 2013; 128: 1298-309.
- [21] Scharnagl H, Kleber ME, Marz W. Letter by Scharnagl et al regarding article, "Elevated remnant cholesterol causes both low-grade inflammation and ischemic heart disease, whereas elevated low-density lipoprotein cholesterol causes ischemic heart disease without inflammation". *Circulation.* 2014; 129: e654.
- [22] Nordestgaard BG. Triglyceride-Rich Lipoproteins and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: New Insights From Epidemiology, Genetics, and Biology. *Circ Res.* 2016; 118: 547-563.
- [23] Jansen H, Samani NJ, Schunkert H. Mendelian randomization studies in coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2014; 35: 1917-1924.
- [24] Sheehan NA, Didelez V, Burton PR, Tobin MD. Mendelian randomisation and causal inference in observational epidemiology. *PLoS Med.* 2008; 5: e177.
- [25] Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med.* 2015; 372: 2387-2397.
- [26] Inactivating mutations in NPC1L1 and protection from coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 2072-2082.
- [27] Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, West AS, et al. Genetically elevated non-fasting triglycerides and calculated remnant cholesterol as causal risk factors for myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2013. 34(24): p. 1826-33.
- [28] Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, et al. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 427-436.
- [29] Do R, Willer CJ, Schmidt EM, et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2013; 45: 1345-1352.
- [30] Schneeman BO, Kotite L, Todd KM, Havel RJ. Relationships between the responses of triglyceride-rich lipoproteins in blood plasma containing apolipoproteins B-48 and B-100 to a fat-containing meal in normolipidemic humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90: 2069-2073.
- [31] Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med.* 1999; 246: 341-355.
- [32] Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, et al. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis.* 1993; 98: 33-49.
- [33] Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta.* 2011; 412: 1306-1318.
- [34] Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Lewis B. Influx in vivo of low density, intermediate density, and very low density lipoproteins into aortic intimas of genetically hyperlipidemic rabbits. Roles of plasma concentrations, extent of aortic lesion, and lipoprotein particle size as determinants. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12: 6-18.
- [35] Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, et al. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 64: 2525-2540.
- [36] Goldstein J, Hobbs H, Brown M, *Familial Hypercholesterolemia*, in *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, C. Scriver, et al., Editors. 2001. McGraw-Hill: New York. 2863-2913.
- [37] Brunzell J, Deeb S, *Familial lipoprotein lipase deficiency, apo C-II deficiency, and hepatic lipase deficiency*, in *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*, C. Scriver, et al., Editors. 2001. McGraw-Hill: New York. 2789-2816.
- [38] Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Reduced atherogenesis in cholesterol-fed diabetic rabbits. Giant lipoproteins do not enter the arterial wall. *Arteriosclerosis.* 1988; 8: 421-428.

- [39] Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res.* 1988; 29: 1491-500.
- [40] Boren J, Lee I, Zhu W, et al. Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the modulation of its binding activity by the carboxyl terminus in familial defective apo-B100. *J Clin Invest.* 1998; 101: 1084-1093.
- [41] Boren J, Olin K, Lee I, et al. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *J Clin Invest.* 1998; 101: 2658-2664.
- [42] Nordestgaard BG, Hjelm E, Stender S, Kjeldsen K. Different efflux pathways for high and low density lipoproteins from porcine aortic intima. *Arteriosclerosis.* 1990; 10: 477-485.
- [43] Nordestgaard BG. The vascular endothelial barrier--selective retention of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol.* 1996; 7: 269-273.
- [44] Proctor SD, Vine DF, Mamo JC. Arterial retention of apolipoprotein B(48)- and B(100)-containing lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002; 13: 461-470.
- [45] Yla-Herttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, et al. Macrophages and smooth muscle cells express lipoprotein lipase in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991; 88: 10143-10147.
- [46] O'Brien KD, Gordon D, Deeb S, et al. Lipoprotein lipase is synthesized by macrophage-derived foam cells in human coronary atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1992; 89: 1544-1550.
- [47] Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem.* 1995; 41: 153-158.
- [48] Norata GD, Grigore L, Raselli S, et al. Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: molecular mechanisms and gene expression studies. *Atherosclerosis.* 2007; 193: 321-327.
- [49] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature.* 2011; 473: 317-325.
- [50] Takahashi S, Sakai J, Fujino T, et al. The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor. *J Atheroscler Thromb.* 2004; 11: 200-208.
- [51] Brown ML, Ramprasad MP, Umeda PK, et al. A macrophage receptor for apolipoprotein B48: cloning, expression, and atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 7488-7493.
- [52] Beisiegel U, Weber W, Ihrke G, et al. The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature.* 1989; 341: 162-164.
- [53] van Wijk DF, Sjouke B, Figueroa A, et al. Nonpharmacological lipoprotein apheresis reduces arterial inflammation in familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 64: 1418-1426.
- [54] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-126.
- [55] Christ A, Bekkering S, Latz E, Rixen NP. Long-term activation of the innate immune system in atherosclerosis. *Semin Immunol.* 2016.
- [56] Bekkering S, Joosten LA, van der Meer JW, et al. The epigenetic memory of monocytes and macrophages as a novel drug target in atherosclerosis. *Clin Ther.* 2015; 37: 914-923.
- [57] Mahley R, Raal S, Type III Hyperlipoproteinemia (Dysbetalipoproteinemia): The Role of Apolipoprotein E in Normal and Abnormal Lipoprotein Metabolism, in *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*, C. Scriver, et al., Editors. 2001. McGraw-Hill: New York. 2835-2862.
- [58] Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J.* 2011; 32: 1345-1361.
- [59] Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA.* 2008; 300: 2142-2152.
- [60] Baigent C, Keech A, Kearney PM, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet.* 2005; 366: 1267-1278.
- [61] Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2014; 129 (Suppl. 2): S1-45.
- [62] Gotto AM, Opie L, Lipid-modifying and anti-atherosclerotic drugs, in *Drugs for the Heart*, L. Opie and B. Gersh, Editors. 2009. Elsevier Saunders: Philadelphia. 398-435.
- [63] Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2007; 357: 1301-1310.
- [64] Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet.* 2010; 376: 1670-1681.
- [65] Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis.* 2011; 217: 3-46.
- [66] Miller M, Cannon CP, Murphy SA, et al. Impact of triglyceride levels beyond low-density lipoprotein cholesterol after acute coronary syndrome in the PROVE IT-TIMI 22 trial. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51: 724-730.
- [67] Kastelein JJ, van der Steeg WA, Holme I, et al. Lipids, apolipoproteins, and their ratios in relation to cardiovascular events with statin treatment. *Circulation.* 2008; 117: 3002-3009.
- [68] Faergeman O, Holme I, Fayyad R, et al. Plasma triglycerides and cardiovascular events in the Treating to New Targets and Incremental Decrease in End-Points through Aggressive Lipid Lowering trials of statins in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2009; 104: 459-463.
- [69] Scott R, O'Brien R, Fulcher G, et al. Effects of fenofibrate treatment on cardiovascular disease risk in 9,795 individuals with type 2 diabetes and various components of the metabolic syndrome: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Diabetes Care.* 2009; 32: 493-498.
- [70] Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2010; 362: 1563-1574.
- [71] Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med.* 2014. 371: 1131-1141.
- [72] Magkos F. Basal very low-density lipoprotein metabolism in response to exercise: mechanisms of hypotriacylglycerolemia. *Prog Lipid Res.* 2009; 48: 171-190.
- [73] Magkos F, Tsekouras YE, Prentzas KI, et al. Acute exercise-induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. *J Appl Physiol.* (1985). 2008; 105: 1228-1236.
- [74] Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1992. 56(2): p. 320-8.
- [75] Stein EA, Lane M, Laskarzewski P. Comparison of statins in hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol.* 1998; 81: 66B-69B.
- [76] Duval C, Chinetti G, Trottein F, et al. The role of PPARs in atherosclerosis. *Trends Mol Med.* 2002; 8: 422-430.
- [77] Lee CH, Olson P, Evans RM. Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology.* 2003; 144: 2201-2207.
- [78] Derosa G, Cicero AE, Bertone G, et al. Comparison of fluvastatin + fenofibrate combination therapy and fluvastatin monotherapy in the treatment of combined hyperlipidemia, type 2 diabetes mellitus, and coronary heart disease: a 12-month, randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Ther.* 2004; 26: 1599-1607.

- [79] Keech A, Simes RJ, Barter P, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005; 366: 1849-1861.
- [80] Ohno Y, Miyoshi T, Noda Y, et al. Bezafibrate improves postprandial hypertriglyceridemia and associated endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome: a randomized crossover study. *Cardiovasc Diabetol*. 2014; 13: 71.
- [81] Reyes-Soffer G, Ngai CI, Lovato L, et al. Effect of combination therapy with fenofibrate and simvastatin on postprandial lipemia in the ACCORD lipid trial. *Diabetes Care*. 2013; 36: 422-428.
- [82] Rosenson RS, Huskin AL, Wolff DA, et al. Fenofibrate reduces fasting and postprandial inflammatory responses among hypertriglyceridemia patients with the metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2008; 198: 381-388.
- [83] Ericsson CG, Hamsten A, Nilsson J, et al. Angiographic assessment of effects of bezafibrate on progression of coronary artery disease in young male postinfarction patients. *Lancet*. 1996; 347: 849-853.
- [84] Frick MH, Elo O, Haapa K, et al. Helsinki Heart Study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1987; 317: 1237-1245.
- [85] Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*. 1999; 341: 410-418.
- [86] Davis TM, Ting R, Best JD, et al. Effects of fenofibrate on renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study. *Diabetologia*. 2011; 54: 280-290.
- [87] Davidson MH, Armani A, McKenney JM, Jacobson TA. Safety considerations with fibrate therapy. *Am J Cardiol*. 2007; 99: 3C-18C.
- [88] Ballantyne CM, Davidson MH, McKenney J, et al. Comparison of the safety and efficacy of a combination tablet of niacin extended release and simvastatin vs simvastatin monotherapy in patients with increased non-HDL cholesterol (from the SEACOAST I study). *Am J Cardiol*. 2008; 101: 1428-1436.
- [89] McKenney JM, Jones PH, Bays HE, et al. Comparative effects on lipid levels of combination therapy with a statin and extended-release niacin or ezetimibe versus a statin alone (the COMPELL study). *Atherosclerosis*. 2007; 192: 432-437.
- [90] Ballantyne C, Gleim G, Liu N, et al. Effects of coadministered extended-release niacin/laropiprant and simvastatin on lipoprotein subclasses in patients with dyslipidemia. *J Clin Lipidol*. 2012; 6: 235-243.
- [91] Usman MH, Qamar A, Gadi R, et al. Extended-release niacin acutely suppresses postprandial triglyceridemia. *Am J Med*. 2012; 125: 1026-1035.
- [92] Ooi EM, Watts GF, Chan DC, et al. Effects of extended-release niacin on the postprandial metabolism of Lp(a) and ApoB-100-containing lipoproteins in statin-treated men with type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015; 35: 2686-2693.
- [93] Aye MM, Kilpatrick ES, Afolabi P, et al. Postprandial effects of long-term niacin/laropiprant use on glucose and lipid metabolism and on cardiovascular risk in patients with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2014; 16: 545-552.
- [94] Elam MB, Hunninghake DB, Davis KB, et al. Effect of niacin on lipid and lipoprotein levels and glycemic control in patients with diabetes and peripheral arterial disease: the ADMIT study: A randomized trial. *Arterial Disease Multiple Intervention Trial*. *JAMA*. 2000; 284: 1263-1270.
- [95] Grundy SM, Vega GL, McGovern ME, et al. Efficacy, safety, and tolerability of once-daily niacin for the treatment of dyslipidemia associated with type 2 diabetes: results of the assessment of diabetes control and evaluation of the efficacy of niaspan trial. *Arch Intern Med*. 2002; 162: 1568-1576.
- [96] Montserrat-de la Paz S, Bermudez B, Naranjo MC, et al. Pharmacological effects of niacin on acute hyperlipemia. *Curr Med Chem*. 2016.
- [97] Kastelein JJ, Maki KC, Susekov A, et al. Omega-3 free fatty acids for the treatment of severe hypertriglyceridemia: the EpanoVa fOr Lowering Very high triglyceridEs (EVOLVE) trial. *J Clin Lipidol*. 2014; 8: 94-106.
- [98] Damasceno NR, Sala-Vila A, Cofan M, et al. Mediterranean diet supplemented with nuts reduces waist circumference and shifts lipoprotein subfractions to a less atherogenic pattern in subjects at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2013; 230: 347-353.
- [99] Jones JL, Comperatore M, Barona J, et al. A Mediterranean-style, low-glycemic-load diet decreases atherogenic lipoproteins and reduces lipoprotein (a) and oxidized low-density lipoprotein in women with metabolic syndrome. *Metabolism*. 2012; 61: 366-372.
- [100] Ambring A, Friberg P, Axelsen M, et al. Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects. *Clin Sci (Lond)*. 2004; 106: 519-525.
- [101] n-3 fatty acids in patients with multiple cardiovascular risk factors. *N Engl J Med*. 2013; 368: 1800-1808.
- [102] Marchioli R, Barzi F, Bomba E, et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation*. 2002. 105: 1897-1903.
- [103] Holman RR, Paul S, Farmer A, et al. Atorvastatin in Factorial with Omega-3 EE90 Risk Reduction in Diabetes (AFORRD): a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2009; 52: 50-59.
- [104] Schirmer SH, Werner CM, Binder SB, et al. Effects of omega-3 fatty acids on postprandial triglycerides and monocyte activation. *Atherosclerosis*. 2012; 225: 166-172.
- [105] Miyoshi T, Noda Y, Ohno Y, et al. Omega-3 fatty acids improve postprandial lipemia and associated endothelial dysfunction in healthy individuals - a randomized cross-over trial. *Biomed Pharmacother*. 2014; 68: 1071-1077.
- [106] Bays HE. "Sick fat," metabolic disease, and atherosclerosis. *Am J Med*. 2009; 122 (Suppl. 1): S26-37.
- [107] Bays HE, Chapman RH, Grandy S. The relationship of body mass index to diabetes mellitus, hypertension and dyslipidaemia: comparison of data from two national surveys. *Int J Clin Pract*. 2007; 61: 737-747.
- [108] Cabrera M, Sanchez-Chaparro MA, Valdivielso P, et al. Prevalence of atherogenic dyslipidemia: association with risk factors and cardiovascular risk in Spanish working population. "ICARIA" study. *Atherosclerosis*. 2014; 235: 562-569.
- [109] Cohen JC, Stender S, Hobbs HH. APOC3, coronary disease, and complexities of Mendelian randomization. *Cell Metab*. 2014; 20: p. 387-389.
- [110] Timpson NJ, Walter K, Min JL, et al. A rare variant in APOC3 is associated with plasma triglyceride and VLDL levels in Europeans. *Nat Commun*. 2014; 5: 4871.
- [111] Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med*. 2014; 371: 2200-2206.
- [112] Nissen SE, Dent-Acosta RE, Rosenson RS, et al. Comparison of PCSK9 Inhibitor Evolocumab vs Ezetimibe in Statin-Intolerant Patients: Design of the Goal Achievement After Utilizing an Anti-PCSK9 Antibody in Statin-Intolerant Subjects 3 (GAUSS-3) Trial. *Clin Cardiol*. 2016; 39: 137-144.
- [113] Rashid S, Tavori H, Brown PE, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 promotes intestinal overproduction of triglyceride-rich apolipoprotein B lipoproteins through both low-density lipoprotein receptor-dependent and -independent mechanisms. *Circulation*. 2014; 130: 431-441.
- [114] Tavori H, Giunzioni I, Predazzi IM, et al. Human PCSK9 promotes hepatic lipogenesis and atherosclerosis development via apoE- and LDLR-mediated mechanisms. *Cardiovasc Res*. 2016; 110: 268-278.
- [115] Cariou B, Si-Tayeb K, Le May C. Role of PCSK9 beyond liver involvement. *Curr Opin Lipidol*. 2015; 26: 155-161.