

HDL E RIDUZIONE DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE: VALE ANCORA LA PENA INSISTERE?

F. Muscente, R. De Caterina

Cattedra e Istituto di Cardiologia
Università degli Studi “G. d’Annunzio” di Chieti.

Dopo i grandi successi ottenuti con la diminuzione del colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità (low-density lipoprotein cholesterol, C-LDL) sugli esiti cardiovascolari, forti evidenze epidemiologiche prima, e la ricerca di base poi, avevano indotto alla formulazione dell’ipotesi di un ruolo protettivo delle lipoproteine ad alta densità (high-density lipoproteins, HDL) sulla malattia cardiovascolare. Secondo quest’ipotesi, l’aumento del colesterolo HDL (C-HDL), o colesterolo “buono”, era un’inevitabile e quanto mai ovvia strada da percorrere per ottenere ulteriore ateroprotezione ed abbattere il “rischio cardiovascolare residuo”¹. Pertanto, l’aumento del C-HDL tramite farmaci diveniva il nuovo bersaglio da raggiungere nella lotta contro le malattie cardiovascolari.

Nonostante le premesse iniziali apparissero solide e fortemente incoraggianti, ad oggi ci troviamo a fare i conti con una serie di risultati contraddittori e a dover necessariamente constatare che le cose non stanno affatto andando così come ci saremmo aspettati. Già i primi approcci percorsi – niacina (acido nicotinico) e fibrati inizialmente, torcetrapib poi – avevano dato risultati complessivamente deludenti, se non addirittura fallimentari. All’ulteriore fallimento della niacina, risultato dall’Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL Cholesterol/High Triglyceride and Impact on Global Health Outcomes (AIM-HIGH) trial, si è da poco aggiunta un’altra pesante battuta d’arresto con la prematura interruzione del dal-OUTCOMES con dalcetrapib^{2,3}. A minare poi la ragionevolezza stessa dell’ipotesi HDL, ancor più di recente è emerso come i livelli geneticamente determinati di C-HDL non siano capaci di condizionare significativamente il rischio cardiovascolare. Potrebbe dunque essere che la relazione inversa tra C-HDL e rischio cardiovascolare sia non di tipo realmente causale, e verrebbe a perdersi quando aggiustata per variabili concomitanti.

Questo scenario sconcertante ha fortemente raffreddato gli entusiasmi del

mondo scientifico sull'ipotesi delle HDL e giustifica pienamente la domanda: vale la pena continuare a percorrere questa strada o dobbiamo definitivamente abbandonarla?

In realtà chiedersi se valga ancora la pena insistere significa porsi due interrogativi: 1) se ha ancora senso avere come bersaglio terapeutico l'aumento "indiscriminato" del C-HDL e quindi principalmente l'inibizione della cholesterol ester transfer protein (CETP), inibizione che sicuramente aumenta tali livelli; 2) se sia giunto o meno il momento di confutare la ragionevolezza dell'intera ipotesi HDL, ovvero se sia necessaria piuttosto una sua riformulazione. Cercheremo di dare delle risposte plausibili alle suddette domande, partendo da una breve disamina del substrato fisiopatologico e biologico e procedendo poi attraverso l'analisi delle più recenti battute d'arresto sopra citate.

La complessità biologica delle HDL

Una descrizione dettagliata della biologia e della fisiopatologia delle HDL esula dagli obiettivi di questo lavoro. La messa in luce di capacità ateroprotettive multiple, sia colesterolo-dipendenti (trasporto inverso del colesterolo, reverse cholesterol transport, RTC) che colesterolo-indipendenti (proprietà anti-infiammatorie, anti-ossidanti, anti-trombotiche ed endotelio-protettive) aveva inizialmente consolidato l'ipotesi di una relazione inversa tra C-HDL e rischio cardiovascolare⁴. Tuttavia si è andato sempre più evidenziando come la biologia delle HDL fosse in realtà estremamente complessa, molto più di quella delle LDL⁵.

Le HDL si caratterizzano innanzitutto per una notevole eterogeneità strutturale relativamente a forma, dimensione e composizione delle singole particelle; questa ne condiziona inevitabilmente un'ampia variabilità di funzione. Se da una parte è dunque doveroso ipotizzare che non tutte le particelle siano parimenti ateroprotettive, dall'altra dobbiamo constatare che non siamo ancora in grado di individuare quali lo siano maggiormente (fig. 1).

A complicare ulteriormente lo scenario, c'è la constatazione che non è più possibile postulare l'esistenza di una relazione univoca tra i semplici livelli plasmatici di C-HDL e ateroprotezione. È noto, infatti, come nel milieu aterotrombotico, modificazioni molteplici (infiammatorie, ossidative, di carbamila-zione e glicazione) rendano le particelle HDL "disfunzionanti"⁶⁻⁸. Esse perderebbero in questo modo le loro capacità ateroprotettive⁹ e diventerebbero paradossalmente pro-infiammatorie e pro-aterogene. Se questo è lo scenario, il razionale dell'aumento "indiscriminato" del C-HDL, coerente con l'ipotesi HDL originaria, non può ad oggi non essere messo fortemente in discussione.

Aumentare il C-HDL: è realmente ragionevole inibire la CETP?

La CETP nella fisiopatologia delle HDL

La CETP è una glicoproteina plasmatica con un ruolo centrale nel metabolismo lipidico. Alcune iniziali osservazioni avevano evidenziato come topi con deficit della CETP non sviluppavano lesioni aterosclerotiche, neanche quando sottoposti a diete fortemente ipercolesterolemiche. Parallelamente, nel-



Eterogeneità strutturale e funzionale del C-HDL

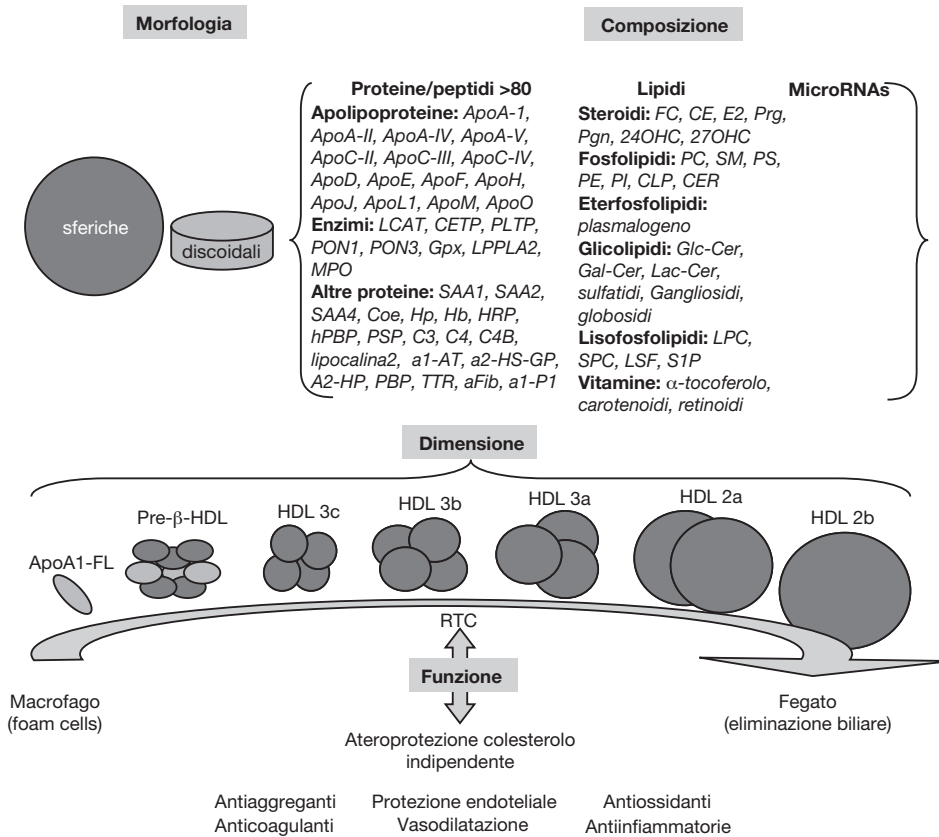


Fig. 1. Complessità biologica delle HDL: eterogeneità strutturale e funzionale.

Le HDL costituiscono una famiglia di particelle lipoproteiche estremamente eterogenee per forma (sferiche, discoidali); per dimensione (dalle piccole pre-HDL alle grandi HDL2), per composizione proteica (proteoma) e lipidica (lipidoma). Le proteine isolate finora sono più di 80, e solo poche di esse con un ruolo specifico nel metabolismo lipidico. Il proteoma include infatti diversi enzimi con proprietà anti-ossidanti, proteine di fase acuta, componenti del complemento e del sistema immunitario. Per ciò che riguarda il lipidoma poi, oltre alla diversa composizione qualitativa e quantitativa di esteri del colesterolo (CE) e di trigliceridi (TG) tra le diverse particelle, bisogna sottolineare la presenza variabile di alcuni fosfolipidi come sfingomieline e sfingosina-1-fosfato, importanti nel signaling intracellulare. Le particelle veicolano poi quantità variabili di microRNA, anch'essi coinvolti nelle vie di signaling intracellulare. Tutto questo carico proteico, lipidico e di microRNA sarebbe in grado di giustificare molte delle capacità ateroprotettive postulate per le HDL (proprietà anti-infiammatorie, anti-ossidanti, anti-trombotiche) che vanno dunque ben oltre il semplice trasporto inverso del colesterolo. L'eterogeneità strutturale poi inevitabilmente condiziona proprietà funzionali assai variabili, anche nei confronti dei fenomeni atero-trombotici. È pertanto logico ipotizzare che non tutte le particelle siano parimenti ateroprotettive; tuttavia, non siamo ancora in grado di individuare quali lo siano maggiormente.



l'uomo si era osservato che la riduzione geneticamente determinata dell'attività della CETP era capace di conferire un certo grado di protezione cardiovascolare ¹⁰. A tal proposito, una meta-analisi di 92 studi aveva dimostrato che i portatori di una variante genica del promotore della CETP associata a perdita di funzione (riduzione di massa e attività della CETP del 9.7% e dell'8.6% rispettivamente) determinava un aumento di C-HDL e di apo A1 rispettivamente del 5% e del 2.4%, cui conseguiva una riduzione del rischio cardiovascolare di circa il 5% ¹¹.

Tuttavia, già studi di poco successivi dimostravano come la relazione tra attività della CETP e protezione cardiovascolare non fosse sempre così immediata e univoca. Nello specifico, un'analisi degli studi REGression GRowth Evaluation Statin Study (REGRESS), Cholesterol And Recurrent Events (CARE) e West Of Scotland COronary Prevention Study (WOSCOPS) aveva evidenziato che i portatori di un polimorfismo della CETP associato a perdita di funzione, quando trattati contemporaneamente con statine, presentavano – a differenza dei soggetti che non erano in trattamento con i suddetti farmaci – un rischio cardiovascolare aumentato piuttosto che ridotto. Dato che le statine erano in grado di inibire la CETP, era plausibile ipotizzare che un'ulteriore riduzione dell'attività dell'enzima, seppure geneticamente determinata, potesse risultare paradossalmente deleteria piuttosto che realmente atero-protettiva.

La CETP è coinvolta nel trasferimento di lipidi, esteri del colesterolo (CE) e trigliceridi (TG), tra le HDL e le lipoproteine contenenti apolipoproteina B (apo B), LDL e VLDL. Questo trasferimento, definito *eterotipico* poiché ha luogo tra lipoproteine di classi diverse, avviene secondo gradiente di concentrazione e determina una riduzione dei livelli plasmatici di C-HDL e un aumento di quelli del C-LDL e C-VLDL ¹².

Da qui nasceva inizialmente il razionale alla sua inibizione. Più di recente, è emerso tuttavia come la CETP sia anche coinvolta nel trasferimento di CE nell'ambito delle stesse HDL. Questo processo, meno noto ma non meno importante, è definito *omotipico*, ed è responsabile del rimodellamento delle HDL, generando – a partire da HDL3 più larghe – HDL2 e più piccole pre-β-HDL; queste ultime altro non sono che gli accettori preferenziali dell'efflusso di colesterolo dalle cellule schiumose (*foam cells*) della parete arteriosa attraverso una via metabolica dipendente dall'*adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1* (ABCA1). Il rimodellamento dinamico delle HDL e la captazione epatica degli HDL-CE attraverso la via dello *scavenger receptor-B1* (SR-B1) rappresentano due processi chiave per il trasporto inverso del colesterolo e per la "funzionalità" delle HDL. Non è da escludere poi che anche il trasferimento di CE che la CETP opera dalle HDL alle LDL e la captazione epatica di queste ultime attraverso il recettore delle LDL (LDL-R), rappresenti esso stesso un passaggio importante per il trasporto inverso del colesterolo. Di conseguenza, la dimostrazione che la CETP è fisiologicamente implicata nel rimodellamento (*remodeling*) delle HDL e nelle vie di clearance del colesterolo, sia attraverso LDL-R che attraverso SR-B1, ha sollevato davvero serie preoccupazioni, e ha destato il sospetto che la sua inibizione possa avere un impatto negativo sulla funzionalità delle HDL e quindi anche sugli eventi cardiovascolari.

La CETP come bersaglio terapeutico: dopo torcetrapib anche dalcetrapib fallisce

Nonostante le suddette premesse, l'inibizione della CETP è stata l'obiettivo che l'industria ha perseguito con maggiore determinazione negli ultimi anni¹³. Già torcetrapib, primo inibitore farmacologico della CETP ad essere sperimentato, aveva clamorosamente fallito per un aumento di mortalità cardiovascolare e totale, che veniva tuttavia attribuito a una sua tossicità fuori bersaglio (*off-target*) piuttosto che all'inibizione della CETP stessa^{14,15}. In un passato più recente, molto si è creduto nel dalcetrapib, un derivato benzenetiolico che per la prima volta aveva dimostrato in vivo importanti effetti anti-aterogeni. In particolare, la sua somministrazione (225 mg/kg/die per sei mesi) in conigli alimentati con una dieta fortemente ipercolesterolemica, aveva determinato una riduzione dell'area intimale coinvolta da lesioni aterosclerotiche nell'arco aortico di circa il 70%. Da un punto di vista prettamente farmacodinamico, dalcetrapib si differenzia da torcetrapib, anacetrapib ed evacetrapib (i 3.5-bis-trifluorometil-benzene derivati) per essere un "inibitore parziale" o "modulatore" della CETP (tab. I); esso, nello specifico, inibisce il trasferimento eterotipico di lipidi neutri, senza tuttavia interferire con quello omotipico. Ciò consente di preservare il fisiologico *remodeling* delle HDL e la conseguente formazione di pre- β -HDL¹⁶. A tal proposito, esperimenti di laboratorio hanno confermato la sua capacità di mantenere inalterato il trasporto inverso del colesterolo. In particolare, criceti sottoposti a reinfusione di macrofagi autologhi contenenti colesterolo marcato, quando trattati con dalcetrapib presentavano, parallelamente all'aumento plasmatico di C-HDL, un'aumentata escrezione fecale di steroli neutri e acidi biliari marcati.

Tabella I - Inibitori della CETP.

	<i>torcetrapib</i>	<i>anacetrapib</i>	<i>evacetrapib</i>	<i>dalcetrapib</i>
Peso molecolare	600.4	673.5	638.6	389.0
Struttura chimica	3.5-bis (trifluorometil) fenil derivato Inibizione tot. CETP	3.5-bis (trifluorometil) fenil derivato Inibizione tot. CETP	3.5-bis (trifluorometil) fenil derivato Inibizione tot. CETP	derivato benzenetiolico Inibizione parziale modulaz. CETP
Farmacodinamica	(trasf. eterotipico e trasf. omotipico)	(trasf. eterotipico e trasf. omotipico)	(trasf. eterotipico e trasf. omotipico)	(solo trasferim. eterotipico)
Lipidi (variazione percentuale, %)				
LDL-C	↓ 20-30	↓ 30-40	↓ 10-40	↓ 0-7
HDL-C	↑ 70-80	↑ 130-140	↑ 70-90	↑ 30-40
pre- β HDL	↓	↓	↓	↑
Aumento PAS	↑ 3-6 mmHg	Nessun effetto	Nessun effetto	Nessun effetto
Fase di speriment.	Studio di fase III abbandonato nel 2007 (ILLUMINATE trial: ↑ mortalità)	Fase III in corso (REVEAL-trial)	Fase II in corso	Fase III (dal-OUT COME trial) terminata (maggio 2012): nessun beneficio

Legenda: CETP=cholesterol ester transfer protein; LDL-C= low-density lipoprotein; HDL-C= high-density lipoprotein cholesterol; PAS pressione arteriosa sistolica.

Le ripercussioni cliniche dei suddetti dati laboratoristici sono state ampiamente indagate nel dal-HEART Program (tab. II)³. Due studi di meccanismo, dal-VESSEL¹⁷ e dal-PLAQUE^{18,19}, hanno fornito dati non negativi, ma nemmeno conclusivi nel senso di un effetto biologico favorevole, e avevano scongiurato il possibile rischio di una tossicità off-target sulla funzione endoteliale e sulla struttura vascolare. Nel dal-VESSEL, uno studio di fase IIb, il trattamento con dalcetrapib 600 mg ha aumentato i livelli di C-HDL del 31% rispetto al placebo, senza aumentare tuttavia la vasodilatazione endotelio-mediata, una funzione endoteliale dipendente da nitrossido, e senza produrre variazioni significative su marcatori di stress ossidativo e d'infiammazione. Nello studio dal-PLAQUE, anch'esso randomizzato, controllato con placebo e di fase IIb in 130 pazienti con malattia coronarica o equivalente rischio cardiovascolare, i pazienti sono stati trattati con dalcetrapib 600 mg/die o placebo per

Tabella II - Il programma dal-HEART: dalcetrapib HDL Evaluation, Atherosclerosis, and Reverse Cholesterol Transport.

	Fase	Disegno	Endpoints	Stato
dal-VESSEL	II B	476 pazienti con coronary heart disease (CHD) o equivalenti per CHD randomizzati in doppio cieco a placebo o dalcetrapib 600 mg	Primario di efficacia: cambiamento dal basale del FMD nell'arteria brachiale dopo 5 minuti di occlusione completa a 12 settimane. Primario di sicurezza: cambiamenti in ABPM a 4 settimane.	Terminato
dal-PLAQUE	II B	130 pazienti con CHD o equivalenti per CHD randomizzati in doppio cieco a placebo o dalcetrapib 600 mg	Infiammazione placca aterosclerotica: FDG-PET a 6 mesi. Dimensione e peso della placca: (magnetic resonance imaging (MRI) dopo 12 mesi: Progressione malattia aterosclerotica.	Terminato
dal-PLAQUE2	III B	900 pazienti con CAD randomizzati in doppio cieco a placebo o dalcetrapib 600 mg	1) Endpoint primario: IVUS e cIMT a 24 mesi IVUS. 2) Valutazioni addizionali: cIMT a 6 e 12 mesi QCA a 24 mesi.	Completamento previsto per Sett. 2013
dal-OUTCOME	III	15.600 pazienti stabili con recente ACS randomizzati in singolo cieco a placebo o dalcetrapib 600 mg	Endpoint primario: prima occorrenza di ciascun evento dell'endpoint composito di mortalità e morbilità cardiovascolare. Endpoint secondario: a) composito di mortalità da tutte le cause; b) variazione dal basale in livelli lipidici e lipoproteici; c) eventi avversi, parametri di laboratorio, segni vitali, ECG.	Prematuramente interrotto (Maggio 2012)
dal-ACUTE	III	300 pazienti con ACS randomizzati in doppio cieco a ricevere dalcetrapib (600 mg) o placebo per 20 settimane + TMS	Endpoint primario: variazione in percentuale rispetto al basale di in C-HDL dopo 4 settimane di arruolamento.	Completato (Giugno 2012)

Legenda: CHD = coronary heart disease; CAD = coronary artery disease; FMD = flow-mediated dilatation; ABPM = ambulatory blood pressure monitoring; FDG-PET = fluoro deoxy glucose-positron emission tomography; MRI = magnetic resonance imaging; cIMT = intima-media thickness; IVUS = intravascular ultrasound; QCA = Quantitative Coronary Angiography; ACS = acute coronary syndrome.

24 mesi. Lo studio si è valso di due test di imaging, la risonanza magnetica (magnetic resonance imaging, MRI) a due anni, e la tomografia a emissione di positroni/tomografia assiale computerizzata (positron emission tomography/computerized tomography, PET/CT) con ^{18}F -fluorodeossiglucosio (^{18}F -FDG) a sei mesi per valutare parametri strutturali e infiammatori di aterosclerosi. Il trattamento con dalcetrapib ha aumentato significativamente il C-HDL e i livelli di apolipoproteina A1 del 31% e del 10% rispettivamente, rispetto al placebo. I risultati a due anni hanno mostrato che c'era un cambiamento nelle dimensioni della placca in pazienti trattati con dalcetrapib. Le variazioni strutturali nella placca hanno suggerito non solo un arresto di progressione, ma anche una regressione della placca stessa. Nell'analisi PET/CT sulla captazione del ^{18}F -FDG, un analogo del glucosio che è captato dalle cellule e intrappolato senza ulteriore metabolizzazione a scopo energetico, e con massima captazione espressa dai macrofagi, è stata osservata una riduzione della captazione del radiofarmaco in pazienti trattati con dalcetrapib a 6 mesi, il che suggerisce un effetto anti-infiammatorio sul vaso. Non si è però osservata una riduzione dei livelli di proteina C-reattiva (C-reactive protein, CRP) che però potrebbe essere un marcatore migliore di infiammazione sistemica piuttosto che vascolare locale.

Il trial clinico di fase 3, il dal-OUTCOME, aveva lo scopo di valutare gli effetti del farmaco sugli esiti cardiovascolari²⁰. Più di 15.000 pazienti con recente sindrome coronarica acuta venivano randomizzati a ricevere 600 mg/die di dalcetraib o placebo in aggiunta a terapia medica standard. Lo studio avrebbe dovuto concludersi nel 2013, ma inaspettatamente, il 7 maggio 2012, il Data and Safety Monitoring Board (DSMB) ne ha raccomandato la prematura interruzione poiché, anche se non veniva riportato alcun segnale avverso di sicurezza, dai risultati della seconda analisi ad interim non emergeva neanche una tendenza a favore di un'efficacia clinicamente significativa, determinando dunque l'arresto per motivi di "futilità", cioè alta improbabilità di raggiungere differenze significative anche accumulando il numero di eventi programmato.

Esiste realmente una relazione inversa, causale, tra C-HDL e rischio cardiovascolare?

Al di là di questo ulteriore pesante fallimento terapeutico, ad alimentare ancora nuove perplessità e a minare alla radice la veridicità dell'ipotesi HDL ci sarebbero i risultati di uno studio condotto dal gruppo di Voight relativi alla genetica delle HDL e quelli quasi contemporanei del gruppo di Mackay. Essi nel complesso andrebbero a sconfessare l'esistenza di una relazione di causalità inversa tra il C-HDL e il rischio cardiovascolare, e vengono qui appresso brevemente descritti.

Le nuove evidenze genetiche

I ricercatori del gruppo di Voight²¹, partendo dall'analisi di specifiche varianti geniche (polimorfismi), hanno mostrato che le variazioni geneticamente determinate dei livelli plasmatici del C-HDL, a differenza di quelle per il C-LDL, non condizionano significativamente gli esiti cardiovascolari. Nello studio sono state messe a punto due distinte analisi di randomizzazione mende-

liana. Nella prima sono stati valutati i possibili effetti atero-protettivi di un polimorfismo nucleotidico singolo (SNP) del gene della lipasi endoteliale (LIPG Asn396Ser) in 95.407 controlli e 20.913 soggetti con storia di cardiopatia ischemica post-infartuale. Tale variante polimorfica, presente nel 2.6% dei soggetti dell'intera coorte, determinava un aumento plasmatico del C-HDL di 5.5 mg/dL che, contrariamente a quanto atteso, non era in grado di determinare alcuna riduzione statisticamente significativa dell'incidenza di infarto miocardico [odds ratio (OR) 0.99; intervalli di confidenza al 95% (95% CI) 0.88-1.11]. Nella seconda analisi di randomizzazione mendeliana, gli studiosi hanno preso in considerazione più varianti geniche polimorfiche. In particolare, essi hanno costruito un punteggio (score) genetico associando i più comuni SNPs (13 SNPs per il C-HDL, 14 SNPs per il C-LDL) in grado di impattare in maniera statisticamente significativa sui livelli plasmatici di C-HDL e C-LDL. Emergeva che ciascuna deviazione standard (1-SD) di aumento del C-LDL derivante dallo score genetico era associata ad un aumento significativo del rischio di infarto miocardico (OR 2.13; 95% CI 1.69-2.69), mentre per ogni 1-SD di aumento del C-HDL non si osservava alcuna riduzione statisticamente significativa del suddetto rischio²¹.

Secondo gli autori, questi risultati metterebbero dunque in dubbio due fondamenti dell'ipotesi HDL: da una parte che l'aumento plasmatico del C-HDL si traduca inevitabilmente e univocamente in una riduzione del rischio di infarto miocardico; dall'altra il valore concreto del C-HDL come misura surrogata di rischio di infarto miocardico nei trial d'intervento^{21,22}.

Le nuove evidenze osservazionali e la concentrazione di particelle HDL (HDL particles, P-HDL)

A tal proposito, è realmente probabile che l'associazione inversa tra C-HDL e rischio cardiovascolare sia verosimilmente influenzata dall'associazione inversa del C-HDL con altri fattori di rischio metabolici, comprese le lipoproteine aterogene. Pertanto essa potrebbe non essere realmente causale, ma conseguenza di queste variabili confondenti.

I saggi standard di misura per il C-HDL e per il C-LDL altro non sono che una misura della quantità globale di colesterolo veicolata delle rispettive frazioni lipoproteiche. È pertanto altamente probabile che quella del C-HDL non sia una misura adeguatamente rappresentativa della biologia e della fisiopatologia delle diverse particelle di HDL (P-HDL)²³.

Sulla base di queste considerazioni, e partendo anche dal riscontro che in alcune popolazioni la concentrazione di P-LDL correla meglio del C-LDL con il rischio cardiovascolare, è stata avanzata l'ipotesi che la quantificazione del numero delle P-HDL mediante spettroscopia in risonanza magnetica nucleare possa essere un indice globalmente più rappresentativo dell'effetto biologico delle HDL rispetto alla semplice determinazione del C-HDL. Analizzando le coorti dello studio Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA), i ricercatori hanno dimostrato che le concentrazioni di P-HDL erano positivamente correlate con i livelli di C-HDL, e che sia P-HDL che C-HDL erano correlate inversamente con C-LDL, P-LDL e con altri fattori di rischio metabolici. Aggiustando per le variabili confondenti, lo spessore carotideo intima-media (carotid intima-media thickness, IMT) era minimo tra i pazienti che avevano in contemporanea sia più alte concentrazioni di C-HDL che di P-HDL. Una de-

viazione standard (1-SD) di aumento nelle concentrazioni di C-HDL (15 mg/dL) o di P-HDL (6.64 $\mu\text{mol/L}$) era associata ad una riduzione della cIMT di 0.026-mm e 0.030-mm rispettivamente. Ciascuna SD di aumento della concentrazione di C-HDL e P-HDL era anche associata ad una significativa riduzione del rischio di eventi coronarici, rispettivamente del 26% e del 30%.

Tuttavia, mentre la relazione inversa del C-HDL con la cIMT e gli eventi coronarici era attenuata quando aggiustata separatamente per la concentrazione di P-LDL e P-HDL, e scompariva completamente quando aggiustata per entrambi, la concentrazione di P-HDL rimaneva associata con la cIMT e con gli eventi coronarici anche dopo aggiustamento per P-LDL, C-HDL o per entrambi ^{24,25}.

Vale quindi la pena insistere? Commenti di chiusura e controversie

Seppure i dati epidemiologici degli ultimi 30-40 anni mostrino che bassi livelli di C-HDL correlano con un aumento del rischio cardiovascolare, è possibile – e diremmo probabile, alla luce delle nuove evidenze – che la relazione non sia di tipo causale. La relazione potrebbe essere semplicemente indiretta, conseguenza cioè di molteplici variabili confondenti. Secondo alcuni, i risultati genetici supererebbero proprio questa limitazione degli studi epidemiologici osservazionali in quanto una “randomizzazione mendeliana” potrebbe essere vista proprio come un trial randomizzato “della natura” ²². Tuttavia, interpretare i risultati degli studi genetici come fallimento totale dell’ipotesi HDL significherebbe anche qui peccare di superficialità. L’unica variante polimorfica in grado di determinare un aumento significativo del C-HDL, pari al 30% circa, era quella della lipasi endoteliale. Tuttavia, da una parte tale aumento potrebbe non essere sufficiente a tradursi in ateroprotezione; dall’altra non è da escludere che le HDL così geneticamente aumentate abbiano funzione ridotta o più semplicemente non aumentata. È dunque doveroso capire non solo come la genetica modifichi i livelli plasmatici di HDL, ma anche se i polimorfismi analizzati possano rendere le HDL disfunzionanti.

In parallelo, poi, il fallimento di dalcetrapib è apparso agli occhi di tutti come una disfatta clamorosa. Esso era senza dubbio il miglior “puro” test per l’ipotesi HDL dato che, a differenza degli altri inibitori della CETP, aumentava il C-HDL senza modificare significativamente i livelli plasmatici degli altri parametri lipidici. Esso, tra l’altro, manteneva inalterato il trasporto inverso del colesterolo e non mostrava effetti di tossicità off-target. Coerentemente con i dati genetici sopra esposti e con i risultati dello studio AIM-HIGH con niacina, potremmo ipotizzare che l’aumento del C-HDL di circa un 30% non sia sufficiente ad offrire atero-protezione. Inoltre, non dobbiamo neanche rigettare completamente l’idea che per ottenere un beneficio sugli esiti cardiovascolari sia necessaria, oltre all’aumento del C-HDL, una contemporanea riduzione del C-LDL.

Infine, il recente riscontro di un’associazione indipendente tra P-HDL e rischio cardiovascolare suggerisce che le P-HDL possano essere un marcatore inverso più fedele del rischio di coronaropatia, e che il C-HDL non sia una misura in grado di rappresentare pienamente, da un punto di vista prettamente biologico, l’atero-protezione offerta dalle HDL. Il C-HDL è solo uno dei parametri di misura delle HDL; esso è solo ciò che fino ad ora siamo riusciti pra-

ticamente a quantificare. Pochi studi si sono focalizzati su come gli interventi farmacologici a nostra disposizione possano aumentare nello specifico il numero delle P-HDL e si tratta, al momento, per lo più di studi osservazionali, che necessiterebbero pertanto di essere estesamente approfonditi.

Conclusioni

Nonostante questo ampio ventaglio di ambiguità, ad oggi due sono le nostre certezze:

1. indipendentemente dal fatto che si tratti di una relazione indiretta o realmente causale, il basso C-HDL resta un buon marcatore di elevato rischio cardiovascolare;
2. l'ipotesi HDL, intesa come "aumentare il C- HDL per ridurre il rischio cardiovascolare", non può più essere accettata. Essa necessita di essere riformulata tenendo conto della complessità biologica del colesterolo HDL, dell'eterogeneità strutturale e funzionale delle particelle che lo compongono^{26,27}. Pertanto, i nostri interventi terapeutici non possono e non devono mirare solo all'aumento indiscriminato del C-HDL.

C'è chi spera ancora nell'inibizione della CETP con anacetrapib o evacetrapib. Per anacetrapib, che è in una fase più avanzata di sviluppo, si attendono per il 2017 i risultati dello studio Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid modification (REVEAL), un trial randomizzato di fase III disegnato per indagare gli effetti clinici del farmaco in soggetti con arteriopatia nota²⁸. Evacetrapib, in uno studio di fase II, ha dimostrato di essere efficace aumentando significativamente il C-HDL e riducendo il C-LDL. Per quanto si tratti di un trial di piccole dimensioni, il farmaco ha dimostrato parallelamente un soddisfacente profilo di sicurezza poiché, a differenza del torcetrapib, non ha prodotto né aumento della pressione arteriosa né dei livelli di aldosterone (tab. III)²⁹.

C'è poi chi cerca ancora risposte dalla niacina; l'Heart Protection Study 2- Treatment of HDL to Reduce the Incidence of Vascular Events (HPS2-THRIVE), trial di confronto tra l'associazione niacina a lento rilascio (extended release, ER)/laropirant e placebo in aggiunta a simvastatina, e i cui risultati sono attesi per il 2013 (tab. IV), dovrà risolvere definitivamente il dibattito su questo farmaco chiarendo molte delle questioni lasciate irrisolte dallo studio AIM-HIGH. Tuttavia, seppure in questi trial si dovesse palesare una riduzione del rischio cardiovascolare, questi farmaci non saranno mai una prova conclusiva a favore della veridicità dell'ipotesi HDL. In essi, infatti, il beneficio sugli esiti cardiovascolari potrebbe essere la conseguenza della concomitante e significativa riduzione del C-LDL piuttosto che dell'aumento effettivo dei livelli plasmatici di C-HDL. Per continuare a percorrere questa strada ma con maggiori possibilità di derivarne informazioni fisiopatologiche, attualmente forse solo i cosiddetti agenti apoA1-mimetici rispondono ai requisiti che pensiamo siano innanzitutto necessari. Resta però da dimostrare se essi siano anche parimenti sufficienti. Intanto questi agenti, a differenza degli inibitori della CETP, inducono un aumento selettivo delle pre- β HDL; in modelli sperimentali di aterosclerosi, essi hanno dimostrato di attivare l'efflusso di colesterolo e di avere importanti effetti anti-infiammatori³⁰.

Per continuare a perseguire la strada del colesterolo HDL, i dati finora ac-

Tabella III - Anacetrapib ed evacetrapib: principali trial clinici.

Farmaco	Trial	Fase	Inizio arruolam.	Stato	Obiettivo/Disegno	Endpoints	Risultati
	DEFINE	II	2008, Aprile	Terminato (2010)	Valutare sicurezza ed efficacia di anacetrapib in 1.623 pazienti con malattia coronarica (coronary heart disease, CHD) o equivalenti per CHD. Randomizzazione in doppio cieco a 100 mg/die di anacetrapib o placebo in aggiunta a statine e/o altri agenti ipolipemizzanti.	<i>Di sicurezza:</i> valutazione pressione arteriosa, elettroliti sierici, livelli di aldosterone. <i>Di efficacia:</i> variazione dei livelli lipidici.	1) Nessuna differenza rispetto al placebo sull'endpoint primario di sicurezza. 2) Efficacia sul profilo lipidico: notevole aumento del C-HDL (138%), significativa riduzione del C-LDL (40%).
Anacetrapib	REVEAL	III	2011, Giugno	In corso (termine previsto per Gennaio 2017)	Trial clinico di efficacia sulla prevenzione di eventi coronarici maggiori, e di sicurezza a lungo termine in circa 30.000 pazienti con CHD. Randomizzazione in doppio cieco a 100 mg/die di anacetrapib o placebo.	<i>Di efficacia:</i> eventi coronarici maggiori (morte, infarto o procedure di rivascularizzazione).	
	REALIZE	III	2012, Febbraio	In corso (termine previsto per Marzo 2014)	Trial multicentrico, randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare efficacia e tollerabilità di anacetrapib (100 mg/die) in aggiunta a statine e/o altri agenti ipolipemizzanti in 300 pazienti con ipercolesterolemia familiare eterozigote.	<i>Endpoint primario di efficacia:</i> variazione percentuale del C-LDL. <i>Endpoints secondari:</i> variazione percentuale del basale in C-HDL; variazione percentuale dal basale di non C-HDL; variazione percentuale del basale in Apolipoproteina B o Apolipoproteina A1 o Lipoproteina A.	

Tabella III (segue) - Anacetrapib ed evacetrapib: principali trial clinici.

Farmaco	Trial	Fase	Inizio arruolam.	Stato	Obiettivo/Disegno	Endpoints	Risultati
Evacetrapib		II	2008, Ottobre	Terminato (2011)	Trial randomizzato controllato per valutare effetti biochimici, sicurezza e tollerabilità di evacetrapib in monoterapia (30 mg; 100 mg o 500 mg) o in associazione a terapia con statine (sinvastatina 40 mg/die; atorvastatina 20 mg/die; rosuvastatina 10 mg/die) con o senza evacetrapib 100 mg/die in 398 pazienti con alti livelli di C-LDL e bassi livelli di C-HDL.	Endpoint primario di efficacia: variazione in percentuale rispetto al basale di C-HDL e C-LDL dopo 12 settimane di trattamento.	1) Evacetrapib in monoterapia o in combinazione con statine produce un marcato aumento del C-HDL e riduzione del C-LDL se comparato a placebo o a statine in monoterapia. Evacetrapib 500 mg/die in monoterapia aumenta il C-HDL del 132% e riduce il C-LDL del 40%. 2) Evacetrapib si è dimostrato sicuro (nessun cambiamento della pressione arteriosa e dei livelli sierici di aldosterone) sebbene si tratti di uno studio di piccole dimensioni.

Legenda: DEFINE = determining the Efficacy and tolerability of CETP INhibition with AnacEtrapib; REVEAL= Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid-modification; LDL-C = low-density lipoprotein; HDL-C = high-density lipoprotein cholesterol; CHD = coronary heart disease, malattia coronarica.

Tabella IV - Heart Protection Study 2 - Treatment of HDL to Reduce the Incidence of Vascular Events (HPS2-THRIVE)-trial: disegno e obiettivi.

<i>Trial</i>	<i>Fase</i>	<i>Inizio studio</i>	<i>Completamento studio</i>	<i>Disegno</i>	<i>Obiettivi</i>	<i>Risultati</i>
HPS2-THRIVE	III	2007, Gennaio	2012, Ottobre	Studio di intervento, randomizzato, doppio cieco	Valutare gli effetti dell'aumento del C-HDL con niacina a rilascio prolungato (extended release, ER) 1g /laropirant 2g verso placebo su 25.673 soggetti.	Attesi per Marzo 2013
				Classificazione endpoint: sicurezza/efficacia	<i>Endpoint primario:</i> prima occorrenza di attacco cardiaco, ictus o di rivascularizzazione in soggetti con storia di patologia cardiovascolare.	Attesi per Marzo 2013
				Modello di intervento: assegnazione parallela	<i>Endpoint secondario:</i> prima occorrenza di eventi coronarici maggiori (attacco cardiaco o infarto miocardico non fatale) o ictus (fatale e non) o rivascularizzazione (coronarica e non coronarica).	Attesi per Marzo 2013

Legenda: HDL-C = high-density lipoprotein cholesterol.

cumulati sembrano suggerirci di dover orientare i nostri futuri interventi terapeutici verso direzioni che abbiano come indicatori intermedi di efficacia sia marcatori di qualità³¹ che di quantità²⁴, e che questi siano più adeguatamente rappresentativi del reale ruolo biologico del C-HDL e della sua relazione inversa con il rischio cardiovascolare. È una strada ancora lunga e per il momento in salita, che ha bisogno di un adeguato sostegno fisiopatologico, finora approssimativo.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977; 62:707-14
- 2) Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012; 367:2089-99
- 3) Landmesser U, von Eckardstein A, Kastelein J, Deanfield J, Luscher TF. Increasing high-density lipoprotein cholesterol by cholesteryl ester transfer protein-inhibition: a rocky road and lessons learned? The early demise of the dal-HEART programme. *Eur Heart J* 2012; 33:1712-5
- 4) Muscente F, Ricci F, De Caterina R. Se aumentare l'HDL è ragionevole, perché

- non entra nella pratica clinica? *Conoscere e Curare il Cuore* 2012; *Atti* 2012:219-32
- 5) *Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM.* Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res* 2004; 95:764-72
 - 6) *Ansell BJ, Fonarow GC, Fogelman AM.* High-density lipoprotein: is it always atheroprotective? *Curr Atheroscler Rep* 2006; 8:405-11
 - 7) *Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fogelman AM.* Mechanisms of disease: proatherogenic HDL-an evolving field. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2:504-11
 - 8) *Smith JD.* Dysfunctional HDL as a diagnostic and therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30:151-5
 - 9) *Ansell BJ, Navab M, Hama S, et al.* Inflammatory/antiinflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation* 2003; 108:2751-6
 - 10) *Barter PJ, Kastelein JJ.* Targeting cholesteryl ester transfer protein for the prevention and management of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:492-9
 - 11) *Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al.* Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. *JAMA* 2008; 299:2777-88
 - 12) *Brewer HB, Jr., Santamarina-Fojo S.* New insights into the role of the adenosine triphosphate-binding cassette transporters in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport. *Am J Cardiol* 2003; 91:3E-11E
 - 13) *Barter PJ, Rye KA.* Cholesteryl ester transfer protein inhibition as a strategy to reduce cardiovascular risk. *J Lipid Res* 2012; 53:1755-66
 - 14) *Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, et al.* Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med* 2007; 357:2109-22
 - 15) *Hu X, Dietz JD, Xia C, et al.* Torcetrapib induces aldosterone and cortisol production by an intracellular calcium-mediated mechanism independently of cholesteryl ester transfer protein inhibition. *Endocrinology* 2009; 150:2211-9
 - 16) *Niesor EJ, Magg C, Ogawa N, et al.* Modulating cholesteryl ester transfer protein activity maintains efficient pre-beta-HDL formation and increases reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 2010; 51:3443-54
 - 17) *Kastelein JJ, Duivenvoorden R, Deanfield J, et al.* Rationale and design of dal-VESSEL: a study to assess the safety and efficacy of dalcetrapib on endothelial function using brachial artery flow-mediated vasodilatation. *Curr Med Res Opin* 2011; 27:141-50
 - 18) *Fayad ZA, Mani V, Woodward M, et al.* Rationale and design of dal-PLAQUE: a study assessing efficacy and safety of dalcetrapib on progression or regression of atherosclerosis using magnetic resonance imaging and 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography. *Am Heart J* 2011; 162:214-21 e2
 - 19) *Fayad ZA, Mani V, Woodward M, et al.* Safety and efficacy of dalcetrapib on atherosclerotic disease using novel non-invasive multimodality imaging (dal-PLAQUE): a randomised clinical trial. *Lancet* 2011; 378:1547-59
 - 20) *Schwartz GG, Olsson AG, Ballantyne CM, et al.* Rationale and design of the dal-OUTCOMES trial: efficacy and safety of dalcetrapib in patients with recent acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2009; 158:896-901 e3
 - 21) *Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, et al.* Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet* 2012; 380:572-80
 - 22) *Harrison SC, Holmes MV, Humphries SE.* Mendelian randomisation, lipids, and cardiovascular disease. *Lancet* 2012; 380:543-5
 - 23) *deGoma EM, deGoma RL, Rader DJ.* Beyond high-density lipoprotein cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel thera-

- peutic approaches. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51:2199-211
- 24) Mackey RH, Greenland P, Goff DC, Jr., Lloyd-Jones D, Sibley CT, Mora S. High-Density Lipoprotein Cholesterol and Particle Concentrations, Carotid Atherosclerosis, and Coronary Events: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol* 2012; 60:508-16
 - 25) Degoma EM, Rader DJ. High-density lipoprotein particle number: a better measure to quantify high-density lipoprotein? *J Am Coll Cardiol* 2012; 60:517-20
 - 26) Watson KE, Ansell BJ, Watson AD, Fonarow GC. HDL function as a target of lipid-modifying therapy. *Rev Cardiovasc Med* 2007; 8:1-8
 - 27) Rosenson RS, Brewer HB, Jr., Chapman MJ, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem* 2011; 57:392-410
 - 28) Gurfinkel R, Joy TR. Anacetrapib: hope for CETP inhibitors? *Cardiovasc Ther* 2011; 29:327-39
 - 29) Nicholls SJ, Brewer HB, Kastelein JJ, et al. Effects of the CETP inhibitor evacetrapib administered as monotherapy or in combination with statins on HDL and LDL cholesterol: a randomized controlled trial. *JAMA* 2011; 306:2099-109
 - 30) Sherman CB, Peterson SJ, Frishman WH. Apolipoprotein A-I mimetic peptides: a potential new therapy for the prevention of atherosclerosis. *Cardiol Rev* 2010; 18:141-7
 - 31) Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011; 364:127-35