

REVIEW

LA LIPOPROTEINA(A): DALLA BIOLOGIA ALLA CLINICA

Lipoprotein(a): from benchtop to bedside

DAVIDE NOTO**CON LA COLLABORAZIONE DI ANTONELLA GIAMMANCO, DONATA PANNO**

Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Cura delle Malattie Rare del Metabolismo - CERMMET, Azienda Ospedaliera Policlinico Universitario "Paolo Giaccone", Palermo

SUMMARY

Lipoprotein(a) [Lp(a)] has been identified in 1963. Its role as cardiovascular risk factor has been cleared in the early studies performed between 1970-1980. Lp(a) is made of an LDL particle bound to the apolipoprotein(a) [apo(a)]. Apo(a) is genetically polymorphic, presenting a variable number of repeats of a protein domain called "kringle" IV-2 (KIV-2). This polymorphism accounts for the 40-70% of the Lp(a) plasma levels variability. Longer apo(a) variants account for lower Lp(a) plasma levels and vice-versa. The Lp(a) metabolism and biological functions are not completely understood. Lp(a) assembly and catabolic sites have not been pinpointed univocally while Lp(a) function might be related to thermogenesis processes as shown in lethargic animals. Apo(a) shows properties responsible for the increased risk of Lp(a) for cardiovascular disease (CV). Apo(a) interferes with the generation of plasmin increasing the thrombus stabilization and it also binds most of the circulating oxidized phospholipids, thus explaining the pro-thrombotic and pro-atherogenic properties of Lp(a). Genome wide association studies have shown that LPA locus is one of loci more frequently associated to CV risk. Up to date, Lp(a)-lowering drugs are not available. Nevertheless, comforting results have been obtained by aspirin and niacin (not proved in trials) and by next-generation lowering-cholesterol drugs, as lomitapide and mipomersen. A novel antisense oligonucleotide anti-apo(a) mRNA has been developed and tested only in animals. Lp(a) apheresis is indicated in very high CV risk subjects with elevated Lp(a).

Keywords: *apolipoprotein (a); lipoprotein (a); atherogenesis; thrombosis; genetics; cardiovascular risk.*

Introduzione

La lipoproteina(a) [Lp(a)] è stata identificata da Berg nel 1963 (1) durante un esperimento di immunizzazione di conigli con lipoproteine LDL. Inizialmente essa

venne considerata una variante antigenica della LDL dovuta alla presenza di un antigene che venne definito Lp(a). Questa scoperta iniziale venne accantonata fino agli anni 70 quando uno studio svedese identificò una variante elettroforetica di lipoproteina che sembrava essere maggiormente presente nei soggetti con patologia cardiovascolare (2). Questa lipoproteina, detta Lp prebeta-1 risultò essere Lp(a). Da allora la Lp(a) divenne oggetto di studi

Indirizzo per la corrispondenza

Davide Noto

Azienda Ospedaliera Policlinico Universitario
"Paolo Giaccone"

Via del Vespro, 141 - 90145 Palermo

e-mail: notoddd@alice.it

clinici e di laboratorio che permisero una completa caratterizzazione funzionale.

Struttura della Lp(a)

La Lp(a) è composta da una LDL con la presenza di una apolipoproteina aggiuntiva chiamata apolipoproteina(a) [apo(a)]. Questa componente proteica conferisce alla Lp(a) alcune proprietà peculiari.

La apo(a) è legata covalentemente alla apolipoproteina B100 (apoB100) mediante formazione di un ponte disolfuro tra la cisteina 4326 della apoB e la cisteina 4057 della apo(a) (Figura 1). Questo legame rende la Lp(a) molto stabile e impedisce il distacco legato ad interazioni elettrostatiche o idrofobiche. Poiché tale legame si localizza nel versante terminale della apoB100, è impossibile un legame tra la apo(a) e la apoB48, il componente

proteico principale dei chilomicroni, poiché essa manca della metà terminale della apoB100.

Il gene che codifica la apo(a) è definito LPA, ed è localizzato nel cromosoma 6q23 in posizione 160.952.515-161.087.407 Mega basi (Mb) secondo la codifica GRCh37/hg19. Il gene è altamente polimorfo, presentando un numero variabile di ripetizioni esoniche (VNTRs) codificanti per un dominio proteico, definito “kringle”, poiché presenta una conformazione spaziale che ricorda il celebre pasticcino danese (3). Esso viene stabilizzato da 3 ponti disolfuro intracatenari rigidamente distanziati. In particolare esistono 10 varianti di strutture “kringle” nella apo(a), ma quella che è altamente polimorfica è la variante “kringle IV type 2” o KIV-2 (4). Sono state identificate varianti del gene LPA che presentano da 2 a 60 ripe-

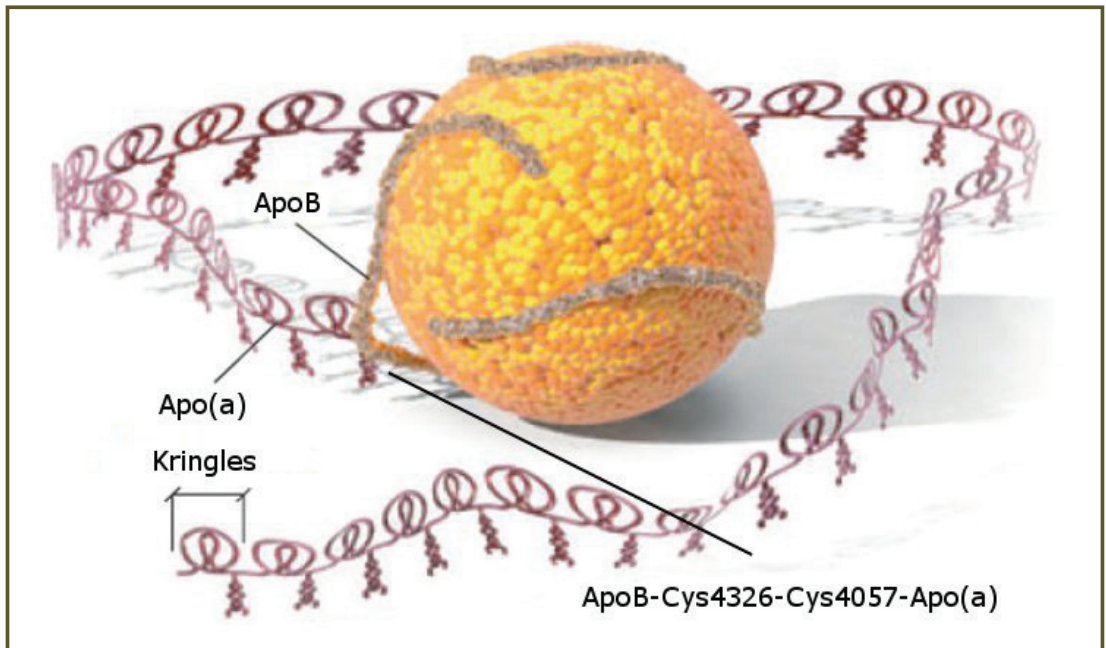


Figura 1 - Struttura della Lipoproteina (a).

Figura da Angelin B, (49) . La lipoproteina(a) è costituita da una Lipoproteina LDL a cui si aggiunge la apolipoproteina(a) mediante formazione di un ponte disolfuro tra apolipoproteina B100 e apolipoproteina(a), vedi testo.

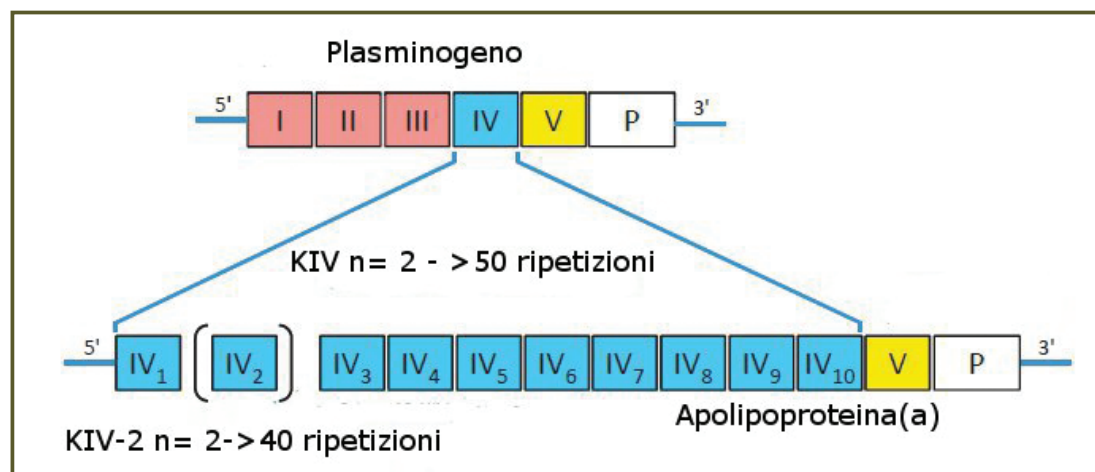


Figura 2 - Struttura della apolipoproteina(a).

Figura da Kronenberg et al. (6). Numeri da I a V = da kringle I a kringle V.

tizzazioni di sequenza codificanti per il KIV-2. Come conseguenza la apo(a) presenta dimensioni molto variabili come visibile nella *figura 2*. Inoltre sono stati descritti numerosi “single nucleotide polymorphisms” (SNPs) nelle regioni codificanti ed almeno una regione penta-nucleotidica nella regione del promotore che modificano l’espressione della apo(a) (5). Il promotore del gene LPA presenta diverse sequenze “consenso” per fattori di trascrizione che modulano l’espressione genica. Si riconoscono sequenze “consenso” per ormoni estrogeni, interleuchina 6, alcuni fattori di regolazione epatica come gli “hepatic nuclear factors (HNF) 1^a e 3^a (6), ed inoltre è regolato da un recettore che regola il metabolismo lipidico come il farnesoid X receptor (FXR). La regolazione dell’espressione di Lp(a) da parte di una citochina infiammatoria spiegano perché a Lp(a) è stato attribuito il ruolo di proteina di fase acuta.

La struttura proteica della apo(a) consta di numerosi domini funzionali. Nel suo complesso essa ricorda molto la struttura del plasminogeno, un proenzima la cui conversione in plasmina determina un’at-

tivazione dei processi trombolitici. Anche il plasminogeno presenta una serie di strutture tipo “kringle”, numerate da I a V, seguite da un dominio catalitico di tipo serina-proteasico che può essere clivato dall’attivatore tissutale del plasminogeno e dalla urokinasi, generando così plasmina. Nella apo(a) esistono domini che ricordano strettamente gli analoghi domini del plasminogeno (*Figura 2*), compreso il dominio proteico catalitico carbossi-terminale che però non può essere attivato come nel plasminogeno. L’elemento peculiare della apo(a) è l’elevato numero di ripetizioni del kringle IV, tuttavia tali ripetizioni non danno luogo a strutture identiche, ma a sottotipi del kringle IV, dal tipo 1 al tipo 10 (*Figura 2*). Tutti i sottotipi sono presenti in singola copia ad eccezione del kringle IV tipo 2 le cui ripetizioni sono responsabili del polimorfismo di lunghezza della apo(a) (4).

Numerosi studi in vitro hanno permesso di comprendere come i sottotipi di kringle IV tipo 2 conferiscano proprietà specifiche alla apo(a). In particolare studi di mutagenesi in vitro hanno rivelato come i KIV-7 e KIV-8 siano importanti nel favo-

rire il legame covalente con la apoB100, che avviene nella unica cisteina libera presente nel KIV-9 (7). I domini KIV-10 e KV invece antagonizzano la conversione del plasminogeno in plasmina determinando l'azione pro coagulativa della apo(a) (8). I KIV-6 e KIV-7 sembrano responsabili del legame con i macrofagi della placca aterosclerotica divenuti "cellule schiumose", mentre i KIV-9 KIV-10 e KV svolgono azione proaterogena tramite stimolazione di azioni chemiotattiche e proinfiammatorie (9, 10).

Funzione della Lp(a)

Il ruolo della Lp(a) non è stato ancora chiarito a 50 anni dalla sua scoperta (11). La Lp(a) non è molto diffusa nelle specie animali essendo però presente in molti primati e nel porcellino d'india. In quest'ultimo i livelli circolanti aumentano notevolmente durante il letargo, suggerendo un ruolo nei processi termoregolativi a bassa temperatura (12, 13).

Il ruolo della Lp(a) nell'uomo è ancora più oscuro. Come accennato in precedenza, l'analisi del promotore ha mostrato che l'espressione del gene LPA è modulata da fattori ormonali (estrogeni) citochine (IL-6) e fattori che regolano il metabolismo energetico a vari livelli, come FXR, e i HNF1A e HNF3A.

Anche questi dati suggeriscono un ruolo metabolico ancestrale che non è stato probabilmente mantenuto. Inoltre l'azione protrombotica suggerisce un ruolo nei meccanismi coagulativi alla base dei processi riparativi da traumi e ferite.

Metabolismo della Lp(a)

Utermann (14) nel 1989 definì il metabolismo della Lp(a) uno dei "misteri" della Lp(a). Questo mistero non è stato

ancora risolto. Infatti non si hanno dati certi sul sito di assemblaggio della Lp(a), la regolazione dei suoi livelli plasmatici e le vie cataboliche che sovrintendono alla sua rimozione dal circolo ematico.

La apo(a) viene prodotta principalmente a livello epatico e si assembla con apoB100 per formare Lp(a). Tre possibilità sono state ipotizzate:

- 1) che il legame apoB100-apo(a) avvenga a livello intracellulare;
- 2) che avvenga sulla superficie cellulare o;
- 3) che avvenga negli spazi extracellulari (15).

Nel tentativo di dare una risposta a questo interrogativo sono stati effettuati studi di cinetica in vivo con l'ausilio di aminoacidi marcati con isotopi stabili. Questa metodologia associata alla modellistica compartimentale permette di stimare dati altrimenti inaccessibili agli sperimentatori, come la misura della sintesi proteica (Production Rate, PR) e la velocità catabolica (Fractional Catabolic Rate, FCR). Un primo set di esperimenti ha dimostrato che l'assemblaggio della Lp(a) avviene all'esterno delle cellule (16). Questa ipotesi è stata dimostrata dal fatto che, dopo isolamento della Lp(a), si è notato che le PR della apo(a) e della apoB100 erano diverse, e che la apoB100 sembrava derivare dalle LDL piuttosto che da un pool intracellulare separato di apoB100, come era lecito attendersi se il legame fosse stato intracellulare.

Tuttavia dodici anni dopo questa prima osservazione uno studio che ha utilizzato la stessa metodologia ha ipotizzato che invece il legame si formi all'interno della cellula (17). La nuova teoria in questo caso deriverebbe dal fatto che la velocità di sintesi della apoB100 presente nelle LDL e della apoB100 presente nella Lp(a) sono diverse, rendendo impossibile che la

Lp(a) sia una LDL che si leghi successivamente ad apo(a).

Una volta sintetizzata la Lp(a) si ritrova nel torrente circolatorio dove raggiunge un livello plasmatico che può variare da pochi mg a più di 100 mg/dL. I livelli circolanti di Lp(a) non sono distribuiti normalmente, come molte variabili biologiche, ma presentano una netta prevalenza di soggetti con valori bassi e pochi con valori molto alti (6). I livelli plasmatici di Lp(a) sono determinati geneticamente per una proporzione variabile tra il 20-60% nei vari studi. Questa variabilità dipende anche dal fatto che le distribuzioni dei livelli plasmatici di Lp(a) nelle popolazioni afro-americane sono nettamente differenti da quelle caucasiche (18). Il principale determinante dei livelli di Lp(a) è rappresentato dal polimorfismo di lunghezza del KIV-2 della apo(a) (19).

In particolare, molecole di apo(a) con molte ripetizioni si associano a livelli più bassi di Lp(a) e viceversa. Questa associazione è stata descritta per la variante più corta di apo(a) quando presente in eterozigosi. In un nostro studio abbiamo dimostrato che anche la variante di apo(a) più lunga in eterozigosi contribuisce sensibilmente nel determinare geneticamente i livelli di Lp(a) (20). Come già detto nel capitolo della analisi del promotore, diversi ormoni e chemochine possono modificare i livelli, aprendo il campo alla possibile terapia degli alti livelli di Lp(a).

Anche alcune condizioni patologiche possono influenzare i livelli di Lp(a). I livelli di Lp(a) aumentano progressivamente con il ridursi del filtrato glomerulare, a volte prima che la insufficienza renale si concluda (21). La Lp(a) aumenta considerevolmente nella sindrome nefrosica (22). In un modello di sindrome nefrosica pediatrica, privo di fattori ambientali confondenti, abbiamo dimostrato che

l'aumento di Lp(a) è proporzionale all'aumento di LDL circolanti e alla riduzione della albuminemia (23). Aumenti di Lp(a) sono stati osservati in soggetti con insufficienza renale cronica terminale sottoposti a emodialisi o a dialisi peritoneale (6). Anche nel Diabete Mellito tipo 2 (DMT2) sono state osservate variazioni dei livelli di Lp(a). Nei primi studi di piccole dimensioni sembrava infatti che nei diabetici livelli di Lp(a) fossero più elevati ed associati alla presenza di micro e macroalbuminuria (24). Quando il rischio di DMT2 venne esaminato prospetticamente nello studio Womens Health Study (WHS), si dimostrò sorprendentemente che a livelli più elevati di Lp(a) si associavano meno casi di DMT2 incidente (25). È stata descritta un'associazione tra elevati livelli di Lp(a) e migliore funzione insulinica (26), ma i meccanismi di tale associazione non sono noti.

Anche la sede del sito catabolico della Lp(a) non è stata chiarita. In questo caso vengono prese in considerazione tre ipotesi (15):

- 1) degradazione intravascolare della Lp(a) ad opera di proteasi circolanti e filtraggio dei frammenti per via renale;
- 2) rimozione da parte della intima arteriosa dove contribuisce all'infarcimento lipidico della placca ed alla formazione delle cellule schiumose;
- 3) rimozione per via recettoriale da parte di alcuni recettori della superfamiglia del recettore LDL, come i recettori correlati al recettore LDL o "LDL receptor related proteins" (LRPs), oppure da parte della Megalina, recettore altamente espresso a livello renale (15).

Lp(a) e malattia cardiovascolare

Come già detto nel paragrafo introduttivo, la nozione che la Lp(a) si associasse

ad un eccesso di patologia cardiovascolare era già noto negli anni '70, e numerosi studi che si estesero fino agli anni '90 confermarono queste prime osservazioni. Nell'anno 2000 tutti questi studi preliminari vennero raccolti in una metanalisi nel tentativo di capire il ruolo e l'importanza della Lp(a) come fattore di rischio cardiovascolare (27). Da quest'analisi emerse una notevole variabilità tra gli studi, che venne principalmente attribuita alla mancata standardizzazione delle tecniche di misura della Lp(a). Dai risultati su circa 4.000 soggetti prelevati da 18 studi prospettici emerse che la Lp(a) elevata oltre il terzo terzile conferiva un rischio di eventi CV pari a circa 1,7 rispetto al primo terzile (27). Una successiva metanalisi incluse più di 9000 soggetti con malattia cardiovascolare (MCV) e concluse che il rischio attribuibile alla Lp(a) elevata era di circa 1,5 (1,3-1,8) volte rispetto ai bassi livelli (28). Uno studio ancora più ampio incluse più di centomila soggetti seguiti prospetticamente (29).

Questo studio concluse che il rischio di eventi CV poteva essere stimato intorno a 1.13 -1.16 per ogni deviazione standard in più dei livelli di Lp(a). Questa analisi, pur riducendo il significato della Lp(a) come fattore di rischio, ha però confermato che la Lp(a) è un fattore di rischio indipendente, cioè non legato ad alcuno dei fattori di rischio classici come fumo, obesità, dislipidemie ecc. Infatti, elevati livelli di Lp(a) conferiscono un rischio cardiovascolare più elevato ai soggetti con LDL colesterolo elevato, pur non influenzando i livelli di LDL-C. I livelli di Lp(a) si associano invece debolmente con i trigliceridi ed i livelli di ApoB.

Negli anni 2000 la Lp(a) è tornata in auge grazie alla introduzione delle tecniche di biologia molecolare ad alta efficienza introdotte in quegli anni. In particola-

re risultati per certi versi sorprendenti giunsero dalle tecniche di "genome wide association study" o GWAS. Questa tecnica consente oggi di analizzare simultaneamente in un unico supporto più di un milione di varianti polimorfiche (SNP) per soggetto coprendo in pratica l'intero patrimonio genetico umano. Un approccio genetico più tradizionale venne applicato ai 40.000 soggetti del Copenhagen City Heart Study (30). Questo studio dimostrò che il polimorfismo del KIV-2 si associava sia ai livelli di Lp(a) ma anche agli eventi cardiovascolari. In particolare, il rischio si dimostrò progressivamente crescente per valori incrementali di Lp(a), fino a raggiungere un rischio (hazard ratio) di 2,9 per valori superiori al 95° percentile della distribuzione dei livelli di Lp(a). In questo studio il polimorfismo genetico del KIV-2 della apo(a) giustificava solo il 20-27% della distribuzione dei livelli di Lp(a). Tuttavia il quartile più basso delle ripetizioni del KIV-2 conferiva un rischio di infarto miocardico pari a 1,5. L'associazione tra livelli di Lp(a), isoforme di apo(a) e malattia CV si dimostrò altamente complesso quando si analizzarono i dati degli studi prospettici con casistica multi-etnica. Nello studio ARIC si evidenziò come i soggetti caucasici presentassero una associazione stretta tra livelli di Lp(a), apo(a) e eventi CV, mentre ciò non era vero per i soggetti di origine africana (31) dove i livelli erano però associati agli eventi. Una situazione simile è stata evidenziata nelle popolazioni asiatiche, dove le popolazioni cinesi e giapponesi mantengono il rapporto del KIV-2 della apo(a) con i livelli di Lp(a) (32) ma ciò non è confermato nei soggetti indiani (33).

Queste discrepanze sono state spiegate considerando che il controllo dei livelli di Lp(a) da parte del polimorfismo KIV-2 della apo(a) in altre popolazioni è meno

stretto di quanto sia nei caucasici. Numerosi studi di GWAS hanno analizzato le varianti genetiche associate alla MCV in studi di associazione caso-controllo. Come già accennato questa tecnologia è molto potente nell'identificare le varianti genetiche polimorfiche che contribuiscono a formare un "carico" poligenico globale capace di giustificare parte della suscettibilità genetica di malattie poli-fattoriali come le neoplasie e la MCV.

Tutti gli studi provvisti di adeguata potenza hanno confermato che il gene *LPA* era tra i più associati agli eventi CV, insieme al locus 9p21, che rappresenta probabilmente il maggiore contributo del GWAS alla delucidazione della genetica della MCV (34).

Fisiopatologia della Lp(a) come fattore di rischio cardiovascolare

La Lp(a) presenta delle caratteristiche peculiari che la rendono in grado di arricchire di colesterolo le placche ateromatiche. Si conoscono meccanismi patogenetici proaterogenici e protrombotici (35). Tra i meccanismi proaterogenici devono essere considerate alcune proprietà intrinseche della Lp(a), che non viene internalizzata dal recettore delle lipoproteine LDL (LDL-R), determinando quindi la possibilità che in soggetti con LDL basse o normali possano verificarsi egualmente accumuli di Lp(a) nelle placche ateromatiche (35). La Lp(a) possiede una maggiore affinità per la parete vascolare rispetto alle LDL poiché rispetto a queste possiede una maggiore affinità per i proteoglicani e la fibronectina presenti sulla superficie endoteliale (35).

Una volta penetrata nell'intima vascolare la Lp(a) stimola la proliferazione e migrazione delle cellule muscolari lisce dalla tunica media verso l'intima interferendo

sul legame del transforming growth factor beta (TGF-beta) con il suo recettore posto su tali cellule (35).

Inoltre la Lp(a) determina una attività chemiotattica sui monociti circolanti determinando una maggiore formazione di macrofagi di placca (35). Un'altra peculiare proprietà della Lp(a) è quella di fungere da "scavenger" per i fosfolipidi ossidati circolanti (oxPL) che vengono poi smaltiti da una fosfolipasi associata alle lipoproteine (Lp-PLA₂).

Diversi studi hanno dimostrato che più del 70% degli oxPL circolanti viene veicolato dalla Lp(a) (36). Questo meccanismo benefico può risultare lesivo in presenza di elevate concentrazioni di Lp(a) quando essa si localizza nella intima vascolare rilasciando il suo carico ossidativo, accentuando in tal modo l'alterazione del bilancio ossido-riduttivo verso la ossidazione all'interno della placca ateromatica (36). La Lp(a) possiede anche proprietà protrombotiche.

Tali proprietà le sono conferite dalla sua omologia di struttura con il plasminogeno con il quale condivide più del 80% della sequenza proteica. Il sito catalitico della Lp(a) è infatti inattivo innescando così una competizione per la conversione del plasminogeno in plasmina e quindi determinando una minore generazione di plasmina (37).

L'effetto finale è quello di stabilizzare il trombo di fibrina, evento questo che, come accennato, probabilmente rappresentava un meccanismo ancestrale di protezione contro le emorragie traumatiche, ma che ora determina un aumento del rischio protrombotico nei soggetti con elevati livelli di Lp(a) e con isoforme corte di apo(a) (37). La Lp(a) presenta anche effetti addizionali sui meccanismi di aggregazione, infatti promuove l'attivazione piastrinica e la produzione endoteliale dell'inibitore

dell'attivatore del plasminogeno 1 (PAI-1) mentre invece deprime la sintesi di tissue factor pathway inhibitor (TFPI) (35).

Terapia dei livelli elevati di Lp(a)

Uno dei motivi che giustificano la carenza di successi nella comprensione del ruolo di Lp(a) come fattore di rischio cardiovascolare è probabilmente rappresentato dagli insuccessi nel campo della terapia. Fino ad alcuni anni fa non esistevano infatti farmaci sviluppati "ad hoc" in grado di ridurre i livelli di Lp(a) e quindi non è stato possibile valutare se la riduzione dei livelli di Lp(a) determinasse un abbattimento del rischio cardiovascolare che essa conferisce. Tra i farmaci che storicamente hanno mostrato ridurre i livelli di Lp(a) possiamo annoverare l'acido nicotinic, un farmaco che riduce prevalentemente i trigliceridi innalzando i livelli di HDL colesterolo. Altri farmaci che agiscono sulla espressione del gene LPA sono rappresentati dalla aspirina, che ha mostrato riduzioni comprese tra il 20 ed il 70% in piccoli trials non controllati (38), gli estrogeni e gli steroidi anabolizzanti (39), molecole per le quali esiste un recettore di trascrizione nucleare nel promotore del gene LPA.

Il trattamento di elezione per i livelli molto elevati di Lp(a) in soggetti ad alto rischio è rappresentato dalla aferesi lipoproteica (40), un sistema meccanico di rimozione dell'eccesso lipoproteico tramite circolazione extracorporea. Questo strumento terapeutico si è rivelato molto efficace sebbene esso sia limitato dalla frequenza dei trattamenti, dal loro costo e dalla necessità di accedere a strutture specializzate.

Negli ultimi anni l'identificazione di nuove strategie terapeutiche ha reso possibile disegnare e testare nuovi farmaci in

grado di inibire i livelli di Lp(a), sia come obiettivo terapeutico primario che come obiettivo secondario. Un approccio mirato a ridurre la Lp(a) è rappresentato dallo sviluppo di un oligonucleotide antisense (ASO 144367) in grado di inibire l'espressione della apolipoproteina(a) mediante l'aumentato catabolismo del suo RNA messaggero (41).

Questo trattamento si è dimostrato efficace in modelli animali transgenici per apo(a) umana (riduzione dei livelli di Lp(a) superiore all'80%) e potrebbe essere a breve testato sull'uomo (41).

Riduzioni dei valori di Lp(a) si sono osservate in corso di trials con farmaci innovativi in grado di ridurre i livelli plasmatici di LDL colesterolo.

In particolare riduzioni pari al 30% si sono osservate in trials di fase III con il mipomersen, un oligonucleotide antisense anti-messaggero APOB in grado di inibire la sintesi di lipoproteine epatiche contenenti apolipoproteina B (42), la cui commercializzazione non è stata tuttavia approvata in Italia. Riduzioni lievemente inferiori sono state osservate in un trial di fase II con lomitapide (43), una piccola molecola che inibisce anche essa la sintesi di lipoproteine contenenti apoB mediante interferenza con un enzima chiave, la microsomal triglyceride transfer protein (MTTP). Sono attese le estrapolazioni dei risultati del trial di fase III recentemente pubblicato (44).

Riduzioni inferiori al 20% sono state ottenute in un trial che ha valutato l'uso di un anticorpo monoclonale (REGN727) anti-PCSK9, una pro-convertisi che modula l'espressione di diversi recettori lipoproteici sulla superficie cellulare (45). Riduzioni intorno al 40% sono attese da uno studio di fase III che utilizza l'anacetrapib (46), un inibitore dell'enzima "cholesteryl ester transfer protein" (CETP), un ele-

mento chiave del trasporto inverso del colesterolo. L'inibizione di questo enzima determina riduzioni sensibili dei livelli di LDL colesterolo e aumento dei livelli di HDL colesterolo.

Attualmente sono in studio una serie di possibili alternative terapeutiche basate sulla presenza di sequenze consenso per alcuni fattori di trascrizione presenti sul promotore del gene LPA. In particolare esistono studi preclinici sull'uso del tocilizumab, un anticorpo monoclonale anti recettore per Interleuchina 6 (IL6R) approvato per il trattamento dell'artrite reumatoide (47).

Considerazioni conclusive

La Lp(a) rappresenta un fattore di rischio cardiovascolare indipendente dai livelli circolanti di altre lipoproteine aterogene e da altri fattori di rischio. Il dosaggio della Lp(a) può essere preso in considerazione in pazienti a medio-alto rischio cardiovascolare per una migliore riclassificazione del rischio, in pazienti con dislipidemie genetiche o in soggetti

con pesante familiarità per malattia CV o con eventi CV ricorrenti nonostante il controllo ottimale dei fattori di rischio convenzionali (48). La terapia non deve essere presa in considerazione per trattare i livelli elevati di Lp(a) isolati, ma solo se essi siano presenti in un soggetto con malattia cardiovascolare pregressa o con dislipidemie gravi scarsamente controllate (alti livelli di LDL, bassi livelli di HDL colesterolo ecc.).

La terapia di elezione può essere considerata in prima battuta la somministrazione di acido nicotinico che però è scarsamente tollerato nella gran parte dei soggetti per la presenza di "flushing" come effetto collaterale.

Nei soggetti in prevenzione secondaria con eventi ricorrenti può essere presa in considerazione l'eventualità di un trattamento aferetico.

Nei prossimi anni nuove opzioni terapeutiche saranno disponibili quando la fase di sperimentazione farmacologica di alcune molecole innovative sarà conclusa, visto che i risultati preliminari pubblicati sembrano essere altamente promettenti.

Glossario

Variable number tandem repeat (VNTR): corte sequenze di nucleotidi presenti nel DNA genomico che possono presentare un numero variabile di ripetizioni. Poiché sono ereditabili, vengono utilizzate per identificare la provenienza degli alleli, da parte materna o paterna.

Kringle: struttura proteica caratterizzata da una catena aminoacidica avvolta in modo da ricordare un pasticcino danese di nome "kringle". Questa conformazione è mantenuta da 3 ponti disolfuro intra-catenari presenti in posizioni fisse della sequenza aminoacidica primaria.

Single-nucleotide polymorphism (SNP):

rappresenta una posizione di una singola base del genoma umano che può presentare una possibile alternanza tra due basi azotate in differenti individui. In genere sono possibili due delle possibili quattro basi (A, C, G, T). Se la base meno rappresentata è presente in meno del 2% della popolazione si parla di mutazione e non di polimorfismo.

Modellistica compartimentale: è un insieme di modelli matematici che descrivono l'incorporazione di un tracciante in un dato sistema (cellule in coltura, fluidi corporei etc.). Il modello matematico utilizza un sistema di equazioni differenziali per descrivere nel tempo l'incorporazione del tracciante (aminoacido, acido grasso,

monosaccaride marcato) all'interno metaboliti di interesse (proteine, lipidi, polisaccaridi).

Production rate: valore della produzione di un metabolita stimato da un modello compartimentale, si esprime in mg di molecola x peso/tempo.

Fractional catabolic rate: velocità di eliminazione di un metabolita da un sistema, stimata da un modello compartimentale. Può essere espresso come percentuale del quantitativo presente in un compartimento eliminata nell'unità di tempo (pool/tempo).

Genome wide association study: studio che valuta la differenza di frequenza tra casi e controlli (o in sottogruppi di una popolazione) di un numero elevatissimo di polimorfismi simultaneamente. Il numero di polimorfismi è talmente elevato

da coprire l'intero genoma umano. Se vi è una differenza significativa della frequenza di un polimorfismo o di un gruppo di polimorfismi vicini questo implica che un gene vicino è correlato ad una patologia od ad un tratto biologico (valore di glicemia, colesterolo ecc.).

Oligonucleotide antisense (ASO): tecnologia di biologia molecolare che mira ad annullare la produzione di una proteina il cui eccesso è correlato ad una patologia. L'ASO è una piccola sequenza di acido nucleico che complementa esattamente un RNA messaggero. Questo viene riconosciuto dalle cellule come errato e quindi eliminato. La riduzione della quantità di RNA messaggero determina una riduzione della proteina prodotta dalla cellula, e quindi un miglioramento del quadro fenotipico della malattia.

RIASSUNTO

La lipoproteina(a) [Lp(a)] è stata scoperta nel 1963. Il suo ruolo quale fattore di rischio cardiovascolare è stato chiarito dai primi studi compiuti negli anni 1970-1980. La Lp(a) è composta da una lipoproteina LDL alla quale è legata la apolipoproteina(a) [apo(a)]. La apo(a) è geneticamente polimorfica presentando una ripetizione variabile di un dominio proteico definito "kringle" IV-2 (KIV-2), e tale polimorfismo determina i livelli plasmatici della Lp(a) per una quota variabile dal 40-70%. Varianti più lunghe di apo(a) determinano livelli più bassi di Lp(a) e viceversa. Il metabolismo e la funzione biologica originaria della Lp(a) non sono stati ancora definiti. Il sito di assemblaggio della Lp(a) ed il suo sito catabolico non sono stati identificati con certezza mentre la sua funzione potrebbe essere legata al metabolismo termogenico, in particolare negli animali letargici. La apo(a) presenta alcune caratteristiche che accentuano il rischio cardiovascolare della Lp(a). In particolare la apo(a) interferisce con la formazione di plasmina stabilizzando i processi trombotici, ed inoltre possiede una alta quota di fosfolipidi ossidati: entrambi i meccanismi sono pro-aterogeni e pro-trombotici. I moderni studi di "genome wide association" hanno confermato che il locus genetico LPA è uno dei più importanti fattori di rischio di malattia cardiovascolare. Ad oggi non esistono farmaci studiati per ridurre i livelli di Lp(a). Tuttavia, riduzioni dei livelli sono stati ottenuti con aspirina, niacina e con farmaci ipocolesterolemizzanti di ultima generazione quali lomitapide e mipomersen. Attualmente è in studio un oligonucleotide antisense anti apo(a) mRNA non ancora testato sull'uomo. Il trattamento Lp(a)-feretico è consigliato nei soggetti ad altissimo rischio con Lp(a) elevata.

Parole chiave: *apolipoproteina (a); lipoproteina (a); aterogenesi; trombosi; genetica; rischio cardiovascolare.*

Bibliografia

1. WBerg K. A new serum type system in man - the Lp system. Acta Pathol Microbiol Scand 1963; 59: 369-382.
2. Dahlen G, Ericson C, Furberg C, Lundkvist L, Sveardsudd K. Studies on an extra pre-beta lipoprotein fraction. Acta Med Scand 1972; 531 (Suppl.): 1-29.
3. Fless GM, ZumMallen ME, Scanu AM. Isolation of apolipoprotein(a) from lipoprotein(a). J Lipid Res. 1985; 26(10): 1224-1229.

4. Koschinsky ML, Marcovina SM. Structure-function relationships in apolipoprotein(a): insights into lipoprotein(a) assembly and pathogenicity. *Curr Opin Lipidol*. 2004; 15(2): 167-174.
5. Mooser V, Mancini FP, Bopp S, Pethö-Schramm A, et al. Sequence polymorphisms in the apo(a) gene associated with specific levels of Lp(a) in plasma. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 173-181.
6. Kronenberg F, Utermann G. Lipoprotein(a): resurrected by genetics. *J Intern Med*. 2013; 273(1): 6-30.
7. Gabel BR, Koschinsky ML. Sequences within apolipoprotein(a) kringle IV types 6-8 bind directly to low-density lipoprotein and mediate noncovalent association of apolipoprotein(a) with apolipoprotein B-100. *Biochemistry* 1998; 37: 7892-7898.
8. Hancock MA, Boffa MB, Marcovina SM, Nesheim ME, Koschinsky ML. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a): critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. *J Biol Chem* 2003; 278: 23260-23269.
9. Devlin C, Kuriakose G, Koschinsky M, Tabas I. Increased foam cell lesions in mice expressing an apolipoprotein(a) peptide that binds the cholesterol-activated lipoprotein(a) (Lp(a)) receptor [abstract]. *Circulation* 2001; 104 (Suppl.): II-242.
10. Keesler GA, Gabel BR, Devlin CM, Koschinsky ML, Tabas I. The binding activity of the macrophage lipoprotein(a)/apolipoprotein(a) receptor is induced by cholesterol via a post-translational mechanism and recognizes distinct kringle domains on apolipoprotein(a). *J Biol Chem* 1996; 271: 32096-32104.
11. Dubé JB, Boffa MB, Hegele RA, Koschinsky ML. Lipoprotein(a): more interesting than ever after 50 years. *Curr Opin Lipidol*. 2012; 23(2): 133-140.
12. Tomlinson JE, McLean JW, Lawn RM. Rhesus monkey apolipoprotein(a). Sequence, evolution, and sites of synthesis. *J Biol Chem*. 1989; 264(10): 5957-5965.
13. Laplaud PM, Beaubatie L, Rall SC Jr, Luc G, Saboureaux M. Lipoprotein[a] is the major apoB-containing lipoprotein in the plasma of a hibernator, the hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *J Lipid Res*. 1988; 29(9): 1157-1170.
14. Utermann G. The mysteries of lipoprotein(a). *Science*. 1989; 246(4932): 904-910.
15. Hoover-Plow J, Huang M. Lipoprotein(a) metabolism: potential sites for therapeutic targets. *Metabolism*. 2013; 62(4): 479-491.
16. Demant T, Seeberg K, Bedynek A, Seidel D. The metabolism of lipoprotein(a) and other apolipoprotein B-containing lipoproteins: a kinetic study in humans. *Atherosclerosis*. 2001; 157(2): 325-339.
17. Frischmann ME, Ikewaki K, Trenkwalder E, Lamina C, et al. In vivo stable-isotope kinetic study suggests intracellular assembly of lipoprotein(a). *Atherosclerosis*. 2012; 225(2): 322-327.
18. Cobbaert C, Kesteloot H. Serum lipoprotein(a) levels in racially different populations. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 441-449.
19. Sandholzer C, Hallman DM, Saha N, Sigurdsson G, et al. Effects of the apolipoprotein(a) size polymorphism on the lipoprotein(a) concentration in 7 ethnic groups. *Hum Genet* 1991; 86: 607-614.
20. Noto D, Pace A, Cefalù AB, Barbagallo CM, et al. Differential apolipoprotein(a) isoform expression in heterozygosity is an independent contributor to lipoprotein(a) levels variability. *Clin Chim Acta*. 2003; 328(1-2): 91-97.
21. Kronenberg F, Kuen E, Ritz E, König P, et al. Lipoprotein(a) serum concentrations and apolipoprotein(a) phenotypes in mild and moderate renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 105-115.
22. Wanner C, Rader D, Bartens W, Krämer J, et al. Elevated plasma lipoprotein(a) in patients with the nephrotic syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119: 263-269.
23. Noto D, Barbagallo CM, Cascio AL, Cefalù AB, et al. Lipoprotein(a) levels in relation to albumin concentration in childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1999; 55 (6): 2433-2439.
24. Kronenberg F, Steinmetz A, Kostner GM, Dieplinger H. Lipoprotein(a) in health and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996; 33: 495-543.

25. Mora S, Kamstrup PR, Rifai N, Nordestgaard BG, et al. Lipoprotein(a) and risk of type 2 diabetes. *Clin Chem* 2010; 56: 1252-1260.
26. Rainwater DL, Haffner SM. Insulin and 2-hour glucose levels are inversely related to Lp(a) concentrations controlled for LPA genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1335-1341.
27. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000; 102: 1082-1085.
28. Bennet A, Di AE, Erqou S, Eiriksdottir G, et al. Lipoprotein(a) levels and risk of future coronary heart disease: large-scale prospective data. *Arch Intern Med* 2008; 168: 598-608.
29. Erqou S, Kaptoge S, Perry PL, Di AE, et al. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009; 302: 412-423.
30. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Nordestgaard BG. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction. *JAMA* 2009; 301: 2331-2339.
31. Virani SS, Brautbar A, Davis BC, Nambi V, Hoogeveen RC, et al. Associations between lipoprotein(a) levels and cardiovascular outcomes in black and white subjects: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2012; 125: 241-249.
32. Erqou S, Thompson A, Di Angelantonio E, Saleheen D, et al. Apolipoprotein(a) isoforms and the risk of vascular disease: systematic review of 40 studies involving 58,000 participants. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2160-2167.
33. Geethanjali FS, Luthra K, Lingenhel A, Kanagasaba-Pathy AS, et al. Analysis of the apo(a) size polymorphism in Asian Indian populations: association with Lp(a) concentration and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2003; 169: 121-130.
34. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science*. 2007; 316(5830): 1488-1491.
35. Kiechl S, Willeit J. The Mysteries of Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease Revisited. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55(19): 2168-2170.
36. Tsimikas S, Witztum JL. The role of oxidized phospholipids in mediating lipoprotein(a) atherogenicity. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 369-377.
37. Hervio L, Chapman MJ, Thillet J, Loyau S, Anglés-Cano E. Does apolipoprotein(a) heterogeneity influence lipoprotein(a) effects on fibrinolysis? *Blood* 1993; 82: 392-397.
38. Akaike M, Azuma H, Kagawa A, Matsumoto K, et al. Effect of aspirin treatment on serum concentrations of lipoprotein(a) in patients with atherosclerotic diseases. *Clin Chem* 2002; 48: 1454-1459.
39. Gaeta G, Lanero S, Barra S, Silvestri N, et al. Sex hormones and lipoprotein(a) concentration. *Expert Opin Investig Drugs* 2011; 20: 221-2238.
40. Jaeger BR, Richter Y, Nagel D, Heigl F, et al. Longitudinal cohort study on the effectiveness of lipid apheresis treatment to reduce high lipoprotein(a) levels and prevent major adverse coronary events. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2009; 6: 229-239.
41. Merki E, Graham M, Taleb A, Leibundgut G, Yang X, Miller ER, Fu W, Mullick AE, Lee R, Willeit P, Croke RM, Witztum JL, Tsimikas S. Antisense oligonucleotide lowers plasma levels of apolipoprotein (a) and lipoprotein (a) in transgenic mice. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57: 1611-1621.
42. Thomas GS, Cromwell WC, Ali S, Chin W, et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, reduces atherogenic lipoproteins in patients with severe hypercholesterolemia at high cardiovascular risk: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(23): 2178-2184.
43. Cuchel M, Bloedon LT, Szapary PO, Kolsky DM, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2007; 356(2): 148-156.
44. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, et al. Phase 3 HoFH Lomitapide Study investigators. Efficacy and safety of

- a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013; 381(9860): 40-46.
45. Desai NR, Kohli P, Giugliano RP, O'Donoghue ML, et al. AMG145, a monoclonal antibody against proprotein convertase subtilisin kexin type 9, significantly reduces lipoprotein(a) in hypercholesterolemic patients receiving statin therapy: an analysis from the LDL-C Assessment with Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Monoclonal Antibody Inhibition Combined with Statin Therapy (LAPLACE)-Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 57 trial. *Circulation*. 2013; 128(9): 962-969.
 46. Gotto AM Jr, Cannon CP, Li XS, Vaidya S, et al. Evaluation of Lipids, Drug Concentration, and Safety Parameters Following Cessation of Treatment With the Cholesterol Ester Transfer Protein Inhibitor Anacetrapib in Patients With or at High Risk for Coronary Heart Disease. *Am J Cardiol*. 2013.
 47. Gouni-Berthold I, Berthold HK. Lipoprotein(a): current perspectives. *Curr Vasc Pharmacol* 2011; 9: 682-692.
 48. Lippi G, Franchini M, Targher G. Screening and therapeutic management of lipoprotein(a) excess: review of the epidemiological evidence, guidelines and recommendations. *Clin Chim Acta* 2011; 412 (11-12): 797-801.
 49. Angelin B. Fifty years of lipoprotein(a) - the magical mystery tour continues. *J Intern Med*. 2013; 273(1): 3-5.