

REVIEW

FISIOPATOLOGIA DELLA SINTESI DELLE LIPOPROTEINE INTESTINALI

The pathophysiology of intestinal lipoprotein production

ANTONINA GIAMMANCO, MARIA DONATA PANNO, DAVIDE NOTO, ANGELO B. CEFALÙ

*Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS),
Università degli Studi di Palermo*

SUMMARY

Intestinal lipoprotein production is a multistep process, essential for the absorption of dietary fats and fat-soluble vitamins. Chylomicron assembly begins in the endoplasmic reticulum with the formation of primordial, phospholipids-rich particles that are then transported to the Golgi for secretion. Several classes of transporters play a role in the selective uptake and/or export of lipids through the villus enterocytes. Once secreted in the lymph stream, triglyceride-rich lipoproteins (TRLs) are metabolized by Lipoprotein lipase (LPL), which catalyzes the hydrolysis of triacylglycerols of very low density lipoproteins (VLDLs) and chylomicrons, thereby delivering free fatty acids to various tissues. Genetic mutations in the genes codifying for these proteins are responsible of different inherited disorders affecting chylomicron metabolism.

This review focuses on the molecular pathways that modulate the uptake and the transport of lipoproteins of intestinal origin and it will highlight recent findings on TRLs assembly.

Keywords: *chylomicron, triglyceride-rich lipoproteins, assembly, secretion, inherited disorders.*

Introduzione

I grassi di origine alimentare vengono assorbiti dagli enterociti del piccolo intestino ed assemblati nei chilomicroni. I chilomicroni (CM) sono lipoproteine ricche in trigliceridi (LRT) costituiti da un nucleo (core) lipidico e uno strato periferico costituito da fosfolipidi (6-12%), colesterolo

libero (1-3%) e apolipoproteine (1-2%) e giocano un ruolo essenziale nel trasporto dei trigliceridi e delle vitamine liposolubili (1). Gli epatociti, a loro volta, sintetizzano e secernono particelle ricche in trigliceridi sotto forma di lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) (1). Sia i CM che le VLDL sono idrolizzate nel torrente circolatorio principalmente dalla lipasi lipoproteica (LPL) e convertiti in "remnants" dei CM e lipoproteine a bassa densità (LDL). In questo articolo focalizzeremo la nostra attenzione sui meccanismi fisiopatologici, le vie metaboliche e i geni che modulano l'assorbimento ed il trasporto delle lipoproteine di origine intestinale. Verranno

Indirizzo per la corrispondenza

Angelo B. Cefalù
Dipartimento Biomedico di Medicina
Interna e Specialistica, Policlinico
"Paolo Giaccone", Università di Palermo
Via del Vespro, 141 - 90127 Palermo
Email: abaldassare.cefalu@unipa.it

inizialmente descritte le tappe relative alla sintesi e alla maturazione delle particelle lipoproteiche di origine intestinale e i processi relativi alla loro secrezione in circolo. Cercheremo inoltre di riassumere le conoscenze sul destino extra-intestinale, sui disordini ereditari del metabolismo dei CM e infine su alcune recenti evidenze sull'assemblaggio delle LRT.

Assorbimento dei lipidi intestinali: inquadramento generale

I dati di numerosi studi condotti sia in modelli animali che nell'uomo indicano che il piccolo intestino non solo è coinvolto nell'assorbimento dei lipidi provenienti dalla dieta, ma opera attivamente nella regolazione dei meccanismi di sintesi e secrezione dei CM (2-5). Il processo di assorbimento dei lipidi alimentari è tradizionalmente diviso in tre parti:

- a) assorbimento all'interno degli enterociti;
- b) processazione intracellulare;
- c) trasporto in circolo (2, 4, 6).

La lipasi pancreatica favorisce la prima tappa tramite l'idrolisi dei grassi alimentari, costituiti per la maggior parte da triacilgliceroli (TAG), nel lume del piccolo intestino. Gli acidi grassi (AG) e il sn-2-monoacilglicerolo (MAG) sono i prodotti finali di questa degradazione enzimatica (2).

Il trasporto dei prodotti finali dell'idrolisi attraverso la membrana apicale dell'orletto a spazzola degli enterociti è mediato da CD 36 (cluster determinant 36) (3). Gli AG si legano quindi alle proteine leganti gli acidi grassi (FABPs) e vengono indirizzati ai compartimenti microsomiali per la ri-esterificazione in trigliceridi (4).

La lipogenesi de-novo rappresenta un'altra fonte di trigliceridi da utilizzare per la lipidazione e questo processo è ormonodipendente (4). L'assemblaggio dei CM

è un processo complesso che necessita dell'attività della proteina di trasferimento microsomiale dei trigliceridi (MTP) che permette l'assemblaggio cotrasazionale di apoB-48 all'interno di una particella primordiale, densa, ricca di fosfolipidi (pre-chilomicrone) (7-9).

Successivamente, i pre-chilomicroni sono inclusi all'interno di una speciale vescicola di trasporto (PCTV), che origina per vescicolazione dalla membrana del reticolo endoplasmico (RE) e trasportata al Golgi (7, 9). Una volta all'interno dell'apparato di Golgi numerosi chilomicroni si fondono all'interno di un'altra vescicola di trasporto e sono indirizzati verso la membrana baso-laterale per la secrezione in circolo (5, 10). Sono stati proposti due diversi modelli per l'assemblaggio dei CM (5, 9). Secondo Hussain, l'assemblaggio di piccole particelle di CM nascenti povere in lipidi e di CM di maggiori dimensioni ricchi in trigliceridi, procede attraverso differenti vie metaboliche (9). In alternativa, il cosiddetto modello di "espansione del core", propone che i chilomicroni nascenti e goccioline lipidiche ricche in trigliceridi di diverse dimensioni confluiscono per formare lipoproteine di grandezza eterogenea (5). Nel seguente paragrafo focalizzeremo la nostra attenzione sui recenti progressi nella comprensione del processo di assemblaggio intestinale e trasporto dei CM.

Principali vie metaboliche e geni coinvolti nel metabolismo dei chilomicroni

Gli enterociti del piccolo intestino assorbono colesterolo e AG sia tramite diffusione passiva che per trasporto attivo mediato da proteine (6).

Nel corso degli ultimi anni, è stato dimostrato che varie classi di trasportatori di acidi grassi a lunga catena (AGLC) sono

coinvolte nell'assorbimento selettivo e/o nel trasporto dei lipidi alimentari verso il dominio sub-apicale dei villi intestinali (6). CD 36, identificato originariamente come un recettore per lipoproteine a bassa densità ossidate (LDL-Ox) (11), è una proteina transmembrana glicosilata di 75-88 kDa, composta da 472 amminoacidi, che mostra un'ampia specificità di legame per gli AGLC, varie lipoproteine, proteine glicosilate, trombospondina-1 e altre molecole (12). CD 36 è espressa ubiquitariamente ed i principali siti di sintesi sono muscolo cardiaco, muscolo scheletrico, tessuto adiposo, intestino (3) e endotelio dei capillari (13). Diversi studi *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che CD 36 facilita l'assorbimento tissutale di AGLC (14-15) e gioca un ruolo di rilievo nella patogenesi di alcuni disordini metabolici e dell'aterogenesi (3, 16-19). L'uptake di AG sia nell'intestino che nel fegato è inoltre mediato da proteine che legano gli acidi grassi (Fatty acid binding proteins - FABPs). FABPs sono piccole proteine citosoliche (14 kDa) che appartengono ad una famiglia multigenica espressa sia nell'intestino (Intestinal-FABP, I-FABP o FABP2) che nel fegato (Liver-FABP, LFABP or FABP1) (3, 20).

L'assemblaggio delle lipoproteine intestinali ricche in trigliceridi necessita della cooperazione di due proteine, che agiscono simultaneamente perché questo processo possa essere completato:

- a) l'apolipoproteina B (apoB), che svolge il ruolo di accettore di lipidi neutri;
- b) la proteina di trasferimento microsomiale di trigliceridi (MTP) (21).

L'ApoB è un componente strutturale essenziale della superficie delle lipoproteine e le LRT non possono essere assemblate in assenza di apoB. Nell'uomo, le LRT sono assemblate nel fegato e nell'intestino in modo tessuto-specifico; nel fegato l'apoB matura (apoB-100) è assemblata nelle

VLDL (22) mentre negli enterociti un meccanismo di editing post trascrizionale dell'mRNA di apoB consente la traduzione di una proteina lunga il 48% dell'apoB matura (apoB-48) (22) che è utilizzata per l'assemblaggio dei CM (9).

I CM sono più grandi delle VLDL di origine epatica ma entrambe le particelle contengono oltre all'apoB altre apolipoproteine di dimensione più piccole (apoA-I, apoA-IV e apoC-III). Queste apolipoproteine rivestono un ruolo importante ma non essenziale come quello dell'apoB per l'assemblaggio delle VLDL e dei chilomicroni (9, 23).

L'ApoB nascente è traslocata attraverso la membrana del RE dove MTP interagisce con il suo dominio N-terminale (24).

Questa interazione promuove il trasferimento di lipidi dalla membrana del RE all'apoB nascente, consentendo la formazione di una particella lipoproteica primordiale (24).

Quando la disponibilità di lipidi è limitata oppure la funzione di MTP è compromessa, l'apoB nascente non è correttamente ripiegata e subisce un processo di ubiquitinazione sia all'interno che all'esterno del RE e viene indirizzata per essere degradata attraverso la via proteasomale (24, 25).

La fusione della particella lipoproteica nascente con le goccioline lipidiche ricche in TG provenienti dal REL consentono la formazione di particelle dette prechilomicroni (2). I prechilomicroni vengono successivamente arricchiti di proteine di trasporto vescicolare, che includono le "coatomer proteins II" (COPII) che permettono la loro inclusione in una vescicola della membrana del RE che ha la capacità di fondersi con le membrane dell'apparato di Golgi (2, 9).

Le proteine del complesso COPII svolgono un ruolo cruciale nel trasporto delle LRT dal RE al Golgi (26, 27). Sar1b,

appartenente alla famiglia Sar1/Arf di piccole GTPasi, è una delle proteine essenziali dell'apparato COPII, e consente il corretto assemblaggio del complesso vescicolare con il Golgi (28). Mutazioni nel gene SAR1B, che codifica per Sar1b, sono responsabili della malattia da ritenzione di chilomicroni (Chylomicron Retention Disease - CMRD) un disordine genetico con alterazione selettiva del trasporto dei prechilomicroni attraverso la via secretoria (29, 30). Ne deriva che i prechilomicroni correttamente formati si accumulano in vescicole all'interno degli enterociti.

Particolare interesse riveste l'osservazione che mutazioni del gene SAR1B non si associano ad alterazioni dell'assemblaggio e della secrezione delle VLDL di origine epatica (28, 31). Questa osservazione necessita di ulteriori studi per comprendere meglio i meccanismi che regolano l'assemblaggio e la secrezione dei lipidi intestinali.

Biogenesi dei chilomicroni: un processo a tappe multiple Formazione dei chilomicroni nel lume del reticolo endoplasmatico

I CM sono sintetizzati attraverso un processo a tappe multiple che inizia nel reticolo endoplasmatico (Figura 1).

La prima tappa prevede la formazione di una particella ad elevata densità che contiene apoB-48, fosfolipidi, apoA-IV, colesterolo e piccole quantità di TAG detta chilomicrone nascente; questo chilomicrone nascente si arricchisce successivamente ad esteri di colesterolo e TAG e viene trasferita al Golgi (pre-chilomicrone) (2).

L'apoB-48 neo-sintetizzata interagisce con MTP nel lume del reticolo endoplasmatico rugoso (RER). ApoB-48 può avere due destini:

a) formare complessi con particelle ricche

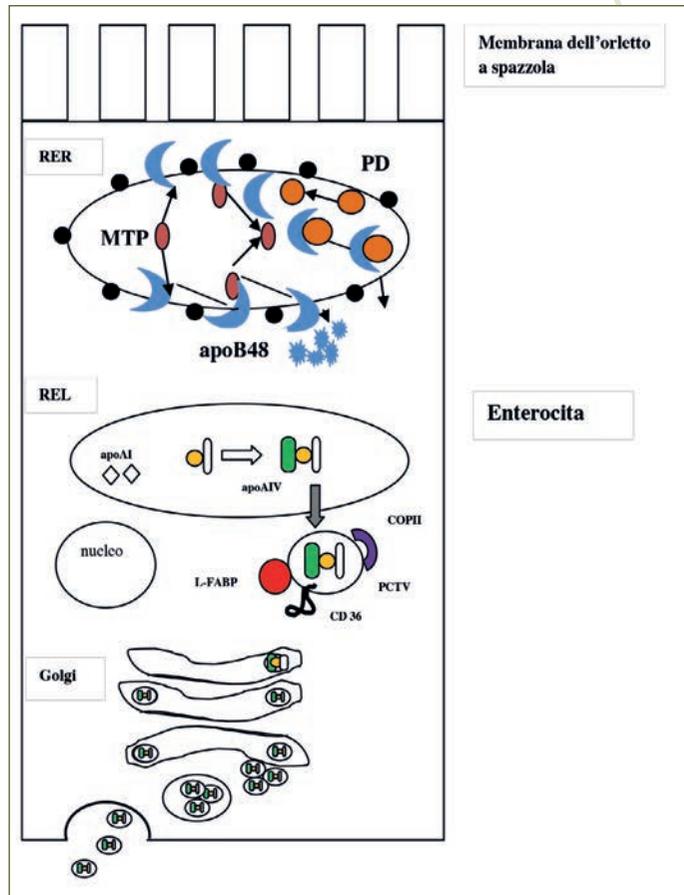


Figura 1 - Biogenesi dei chilomicroni.

La formazione dei chilomicroni avviene in un processo a due tappe all'interno del lume del reticolo endoplasmatico (RE). Nella prima tappa, l'apolipoproteina B48 appena sintetizzata (in blu) è trasportata dalla proteina lumenale, proteina di trasferimento microsomiale dei trigliceridi (MTP, in porpora) all'interno del reticolo endoplasmatico rugoso (RER). L'apoB segue poi due destini: può formare complessi stabili con le particelle dense (PD, in arancione) che contengono principalmente fosfolipidi, colesterolo e piccole quantità di triacilglicerolo (sopra) oppure è rapidamente degradata se manca l'associazione con i lipidi (sotto). Nel reticolo endoplasmatico liscio (REL), il triacilglicerolo e gli esteri del colesterolo (in giallo) sono trasportati dal loro sito di sintesi sulla membrana del RE verso una particella che si ingrandisce tramite MTP ed è incorporata all'apolipoproteina A-IV (apoA-IV, in verde) per formare una particella di grandi dimensioni, che emerge dal REL circondata da una membrana, risultando nella formazione della vescicola di trasporto dei prechilomicroni (PCTV). Dopo la fusione con le proteine di trasporto vescicolare, come COPII (in viola), i prechilomicroni sono incorporati all'interno di un complesso vescicolare con cui trasloca e si fonde nell'apparato di Golgi. Qui, giunge l'apoA-I in vescicole di trasporto diverse da PCTV e aderisce ai chilomicroni per formare un chilomicrone maturo contenente apoA-I, apoA-IV e apoB-48 (non mostrato). I chilomicroni maturi fuoriescono dal complesso di Golgi in larghe vescicole di trasporto che si fondono con la membrana basolaterale e sono secrete.

in lipidi costituite principalmente da fosfolipidi, colesterolo e piccole quantità di triacilglicerolo, oppure

- b) essere rapidamente degradata se non viene complessata con i lipidi. MTP agisce trasportando triacilglicerolo ed esteri di colesterolo dal loro sito di sintesi sulla membrana del REL dove vengono legati ad una particella di dimensioni crescenti stabilizzata da un monostrato di fosfolipidi-colesterolo e apoA-IV per formare una particella leggera di grandi dimensioni (PL).

Questa particella si stacca dal REL circondata da una membrana. Questo processo di vescicolazione necessita di L-FABP, ma non di proteine del sistema COPII, ed è ATP dipendente (2). Le particelle ricche di TAG che non contengono apoB-48 non sono capaci di lasciare il RE, suggerendo che la presenza di apoB-48 sulla superficie della particella ricca di TAG è il segnale che il pre-chilomicrone è pronto per essere esportato (2, 32).

Trasporto dei pre-chilomicroni dal reticolo endoplasmatico

Una volta sintetizzati i pre-chilomicroni lasciano il RE e sono indirizzati attraverso la via secretoria per ulteriori trasformazioni (*Figura 1*) (6).

Il sistema di trasporto dei chilomicroni differisce da quello delle proteine di nuova sintesi. Infatti le particolari dimensioni dei prechilomicroni richiedono un sistema di trasporto idoneo; le PCTV sono di dimensioni sufficientemente grandi per trasportare i prechilomicroni e hanno la capacità di fondersi con il *cis*-Golgi (2).

Inoltre, le PCTV hanno caratteristiche peculiari se paragonate alle altre vescicole di trasporto in quanto contengono il recettore proteico "*v-soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein recep-*

tor" (v-SNARE) e la proteina associata alla membrana vescicolare 7 (VAMP-7) (2, 33-35). I dati di molti studi suggeriscono che il sistema COPII è capace di reclutare proteine di trasporto all'interno delle vescicole, deformare la membrana del RE e liberare la vescicola che si origina per gemmazione dalla membrana del RE per formare una vescicola trasportatrice nascente. Questi eventi si svolgono in specifiche regioni del RE individuate da proteine secretorie (Sec16 e Sec 23) (2). Le vescicole di trasporto proteggono il loro "carico" delimitando un compartimento non accessibile alle proteasi citosoliche e contengono sulla loro superficie alcune informazioni che permettono di essere guidate al *cis*-Golgi (2). Il sistema delle COPII gioca un ruolo fondamentale nel processo di gemmazione vescicolare e interviene indirizzando correttamente i trasportatori provenienti dal RE destinati alla secrezione attraverso il complesso di Golgi (34).

Una menzione a parte merita il destino dell'apolipoproteina A-I (ApoA-I), una delle apolipoproteine coinvolte nell'assemblaggio dei CM. Studi condotti su PCTV intestinali hanno suggerito per ApoA-I un potenziale meccanismo di secrezione indipendente dai CM (2). Infatti la secrezione di ApoA-I non è associata a quella dei CM (2) probabilmente perché le PCTV non contengono apoA-I (33) e l'ApoA-I viene trasportata dal RE al Golgi con una vescicola diversa. Pertanto apoA-I raggiunge il Golgi in vescicole di trasporto differenti dalle PCTV (34).

All'interno del complesso di Golgi, l'apoA-I si lega al pre-chilomicrone per formare un chilomicrone maturo contenente apoA-I, apoA-IV e apoB-48 (2). I chilomicroni maturi lasciano il complesso di Golgi in grandi vescicole trasportatrici che si legano alla membrana basolaterale per essere secreti (34).

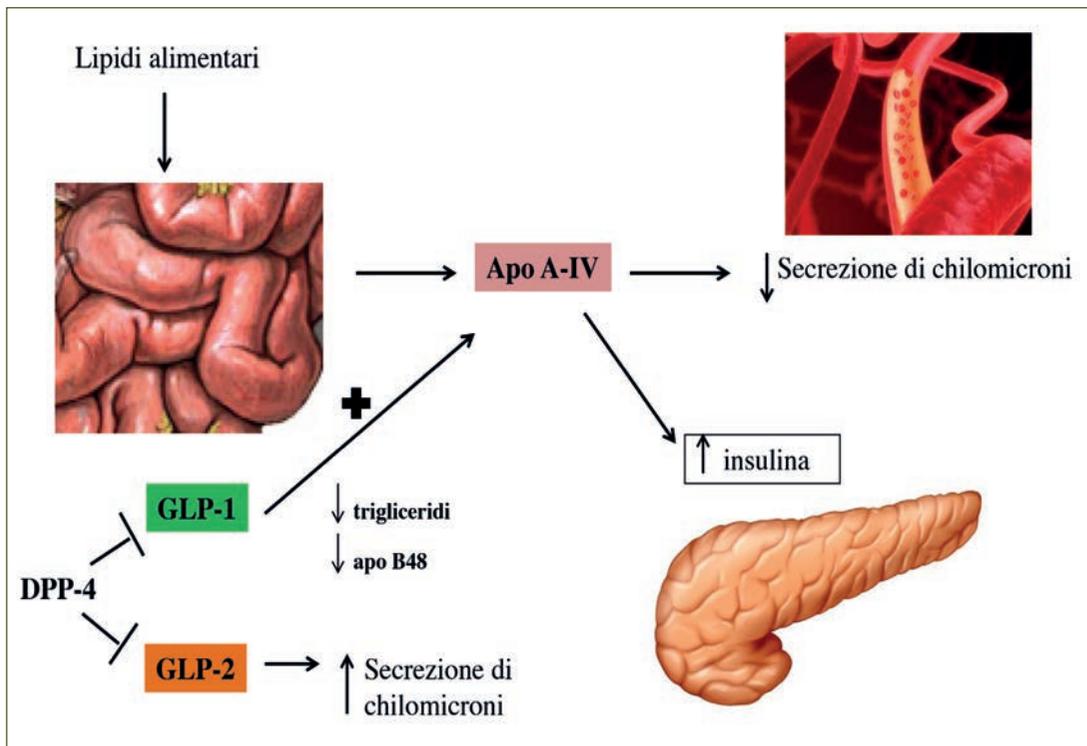


Figura 2 - Apo A-IV ed omeostasi glucidica.

ApoA-IV rappresenta un regolatore endogeno della secrezione insulinica e interagisce con altri fattori dell'asse entero-insulare, tra cui il glucagon-like peptide-1 (GLP-1) e il glucagon-like peptide-2 (GLP-2), incretine intestinali che modulano la secrezione insulinica in risposta all'assunzione di carboidrati e grassi. ApoA-IV è regolata a livello post-traduzionale da GLP-1 e agisce stimolando la secrezione insulinica e riducendo la disponibilità di apoB-48 e TG per l'assemblaggio e la secrezione dei chilomicroni (CM). GLP-2 è secreta insieme a GLP-1, ma esibisce funzioni opposte sull'assemblaggio e sulla secrezione dei CM ed in particolare stimola la secrezione di CM da parte degli enterociti. Sia GLP-1 che GLP-2 sono rapidamente degradati dall'enzima dipeptidilpeptidasi (DPP-4).

Secrezione dei chilomicroni

La secrezione di CM in circolo dipende dalla concentrazione di fosfatidilcolina (FC) di origine alimentare presente nel lume intestinale, dalla quantità di grassi nella dieta, dall'espressione enterocitaria di apoA-IV e dallo stato di idratazione della mucosa (36). Una dieta ad alto contenuto di grassi aumenta il trasporto di FC nella bile e apoA-IV gioca un ruolo nell'induzione della secrezione di CM-TAG incrementando principalmente le dimensioni dei CM (37).

ApoA-IV è una proteina lipofila la cui

sintesi da parte degli enterociti è correlata all'assorbimento di lipidi (38, 39) ed è secreta nella linfa in associazione ai chilomicroni primordiali (40); una quota significativa di apoA-IV si dissocia dai CM in seguito alla riduzione della loro superficie secondaria all'idrolisi lipolitica, e viene trasferita alle HDL e alle frazioni plasmatiche prive di lipoproteine (41, 42).

L'espressione di ApoA-IV è regolata sia dall'assorbimento intestinale di lipidi che dalla secrezione dei CM (43, 44). Pertanto, i livelli apoA-IV circolanti dipendono dalla sintesi e secrezione intestinale di lipidi. ApoA-IV contribuisce inoltre allo svol-

gimento di diverse funzioni fisiologiche come fattore antiossidante, antinfiammatori, anti-aterosclerotico (45, 46), mediatore del trasporto inverso del colesterolo (47) e regolatore del senso di sazietà (48). Tutte queste importanti funzioni di apoA-IV possono essere considerate ridondanti a quelle di altre apolipoproteine che sono contemporaneamente coinvolte in questi processi (38, 39). I dati disponibili suggeriscono che ApoA-IV non interviene nella stabilizzazione del complesso CM-TAG e nell'assemblaggio dei TAG nei CM ma svolge il suo ruolo nella secrezione e nei successivi processi metabolici che si realizzano nel torrente circolatorio (48-50). Il deficit di apoA-IV infatti ritarda la clearance dei CM (50).

Recentemente è stato evidenziato che apoA-IV gioca un ruolo importante nella regolazione dell'omeostasi glucidica attraverso la stimolazione della secrezione di insulina e che il deficit di apoA-IV compromette significativamente l'omeostasi glucidica e la clearance periferica di lipidi. Topi ApoA-IV knock out (KO) mostrano un deficit di secrezione insulinica ed una alterata tolleranza al glucosio in confronto agli animali wild-type, soprattutto quando vengono alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi (49). L'infusione di ApoA-IV in topi ApoA-IV KO migliora la tolleranza al glucosio e la secrezione insulinica (49). Un lavoro recente ha mostrato che in pazienti sottoposti a by-pass gastrico, i livelli plasmatici di apoA-IV aumentano dopo l'intervento chirurgico e correlano con un miglioramento della tolleranza glucidica (50, 51). ApoA-IV sembra essere un regolatore endogeno della secrezione insulinica e interagisce strettamente con altri fattori dell'asse entero-insulare.

ApoA-IV è regolata a livello post-traduzionale dal glucagon-like peptide-1 (GLP-1), un'incrina intestinale che modula la

secrezione insulinica in risposta all'assunzione di carboidrati e grassi (52). GLP-1 agisce stimolando la secrezione insulinica e riducendo la disponibilità di apoB-48 e TG per l'assemblaggio e la secrezione di CM (52).

Inoltre la somministrazione di GLP-1 ricombinante in ratti diabetici inibisce la secrezione di apoA-IV e l'assorbimento di TG (53). Recenti evidenze hanno anche enfatizzato un ruolo cruciale di un altro peptide intestinale nell'omeostasi lipidica intestinale, il glucagon-like peptide-2 (GLP-2). (54-56). GLP-2 è secreto insieme a GLP-1, ma mostra azioni opposte sull'assemblaggio e sulla secrezione dei CM ed in particolare stimola la secrezione di CM da parte degli enterociti (52, 55, 56) (*Figura 2*). Quando GLP-1 e GLP-2 vengono somministrati simultaneamente endovena in soggetti sani per un breve intervallo di tempo (30 min) l'assorbimento di lipidi aumenta, suggerendo un'azione predominante di GLP-2 (54). D'altro canto, quando la co-somministrazione viene effettuata per un intervallo di tempo prolungato (120 min), prevale l'azione di GLP-1 con conseguente riduzione dell'assemblaggio e secrezione post-prandiale di CM (54). Da notare che GLP-1 è rapidamente degradato dall'enzima dipeptidilpeptidasi (DPP-4) (54).

Nel complesso questi dati suggeriscono che promuovere l'attività di GLP-1, sia con agonisti che con antagonisti del DPP-4, potrebbe essere utile per la gestione della dislipidemia secondaria a diabete e/o condizioni di insulino-resistenza (52, 54, 57, 58). In alternativa, antagonizzare GLP-2 potrebbe essere una buona strategia per ridurre la secrezione post-prandiale di CM (55). Questi dati giustificano ulteriori ricerche sul ruolo di apoA-IV, GLP-1 e GLP-2 come modulatori dell'omeostasi glucidica e lipidica.

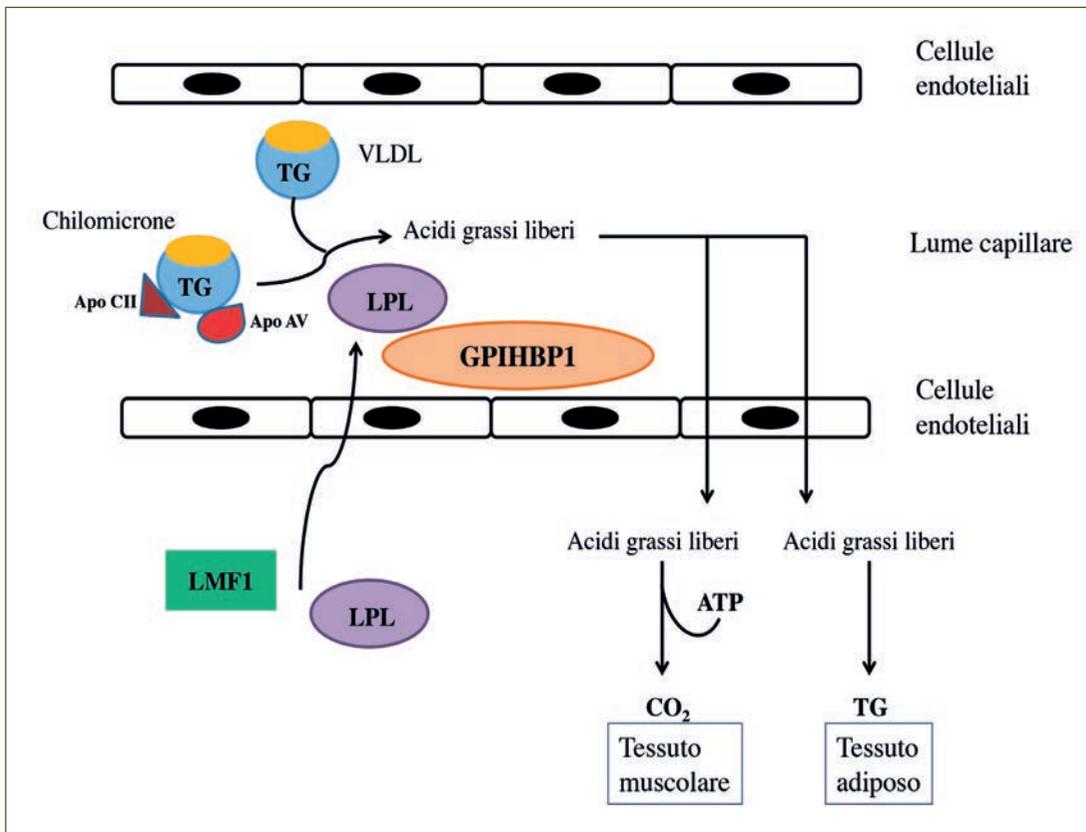


Figura 3 - Piattaforma molecolare della lipolisi delle TRL.

La Lipoproteina Lipasi (LPL) matura è localizzata sulla superficie dell'endotelio capillare del tessuto adiposo e muscolare e, per diventare completamente funzionale, necessita della presenza di due proteine aggiunte: apoA V e GPIHBP1. Chilomicroni e VLDL forniscono Apo C II, attivatore di LPL, e ApoA V che lega GPIHBP1, creando una piattaforma funzionale che mette LPL in contatto con il suo substrato. Inoltre, un altro fattore LMF1 modula LPL, essendo un chaperon responsabile del corretto ripiegamento e maturazione di LPL nel reticolo endoplasmico (RE).

Meccanismi extra-intestinali del metabolismo delle lipoproteine ricche di trigliceridi

Una volta secreti i chilomicroni sono trasportati tramite il sistema linfatico e raggiungono il circolo ematico dove vengono metabolizzati dalla Lipasi lipoproteica (LPL), che gioca un ruolo chiave nell'idrolisi dei triacilgliceroli delle VLDL e dei CM. LPL è sintetizzata nelle cellule parenchimali di svariati organi, tra cui tessuto adiposo e muscolo scheletrico ed è secreta e trasportata a livello della superfi-

cie luminale dell'endotelio vascolare dove si svolgono i processi di idrolisi. LPL attiva è un omodimero legato alle catene di eparansolfato presenti sulle cellule endoteliali (59) e necessita dell'apolipoproteina C-II (APOC-II) come cofattore per svolgere un'azione lipolitica efficiente sulle LRT circolanti (60). Il deficit o difetti strutturali di ApoC-II compromettono la lipolisi mediata da LPL e di conseguenza i TG si accumulano nel plasma (*Figura 3*) (60).

Recentemente, sono state identificate tre nuove proteine che svolgono un ruolo essenziale per la corretta funzione di LPL:

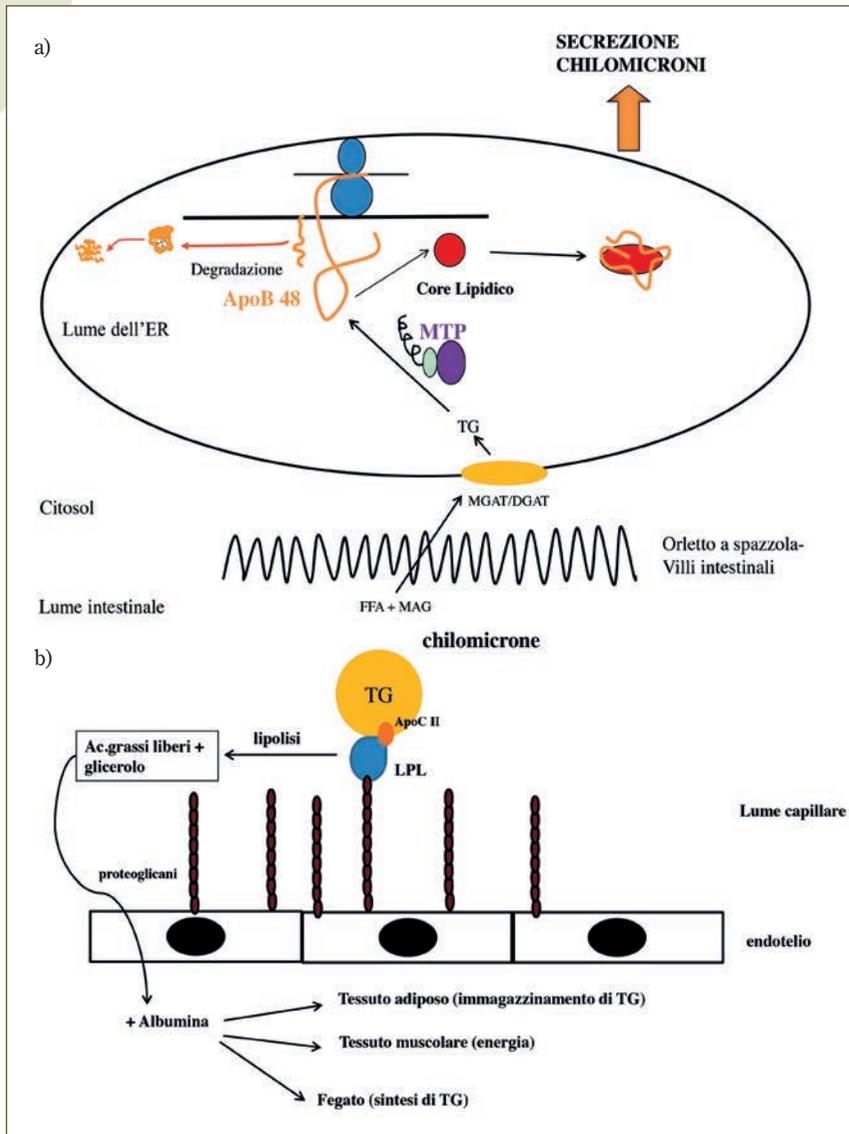


Figura 4 a-b - Meccanismo di assemblaggio delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TG) e ruolo della proteina di trasferimento microsomiale dei trigliceridi (MTP).

La formazione e la secrezione dei chilomicroni nell'enterocita avviene con un processo complesso in cui possiamo individuare 3 fasi cruciali. Gli acidi grassi liberi (FFA) e i monoacilgliceroli (MAG) attraversano la membrana dell'orletto a spazzola e sono trasferiti nel reticolo endoplasmatico (RE) attraverso la proteina di trasporto di acidi grassi (FABP). I trigliceridi (TG) sono re-sintetizzati dall'acil-CoA monoacilglicerolo aciltrasferasi (MGAT) e dall'acil-CoA:diacilglicerolo aciltransferasi (DGAT). In una prima fase si ha la sintesi dell'apolipoproteina B-48 (apoB-48), la proteina strutturale dei chilomicroni, che avviene sui ribosomi del reticolo endoplasmatico rugoso. Nella seconda fase l'apoB-48 di nuova sintesi è lipidizzata dalla proteina di trasferimento microsomiale (MTP) per formare chilomicroni nascenti (CM) che è successivamente lipidizzata con l'aggiunta di un core di trigliceridi (TG) e di esteri di colesterolo (CE) da MTP per formare un pre-CM. Un difetto in questa fase si verifica nell'Abetalipoproteinemia. Nella terza fase il chilomicrone viene trasportato all'apparato di Golgi grazie ad un sistema di vescicole di trasporto (*Figura 1*) ed indirizzato alla secrezione. Il trasporto del chilomicrone nella via secretoria è guidato proteina Sar1b. Difetti in ciascuna di queste fasi si traducono in un malassorbimento intestinale dei lipidi.

apoA-V, LMF1 (fattore di maturazione della lipasi-1) e GPIHBP1 (proteina che lega lipoproteine ad alta densità ancorata al glicosilfosfatidilinositolo-1).

La funzione principale ad oggi nota di apoA-V è quella di agire come cofattore e di stimolare LPL e la clearance plasmatica delle LRT (61). LMF1 è essenziale per la maturazione funzionale sia della LPL che della lipasi epatica (HL) (62).

GPIHBP1 è una proteina endoteliale

che interviene il trasporto di LPL verso la superficie endoteliale e fornisce una piattaforma per la lipolisi dei TG (63-64) (*Figura 3 e 4 a-b*).

Disordini ereditari del metabolismo dei chilomicroni

Come discusso in precedenza MTP è una proteina di trasferimento intracellulare di lipidi essenziale per l'assemblaggio

e la secrezione delle particelle di VLDL e CM; MTP è responsabile dell'iniziale incorporazione dei lipidi con l'ApoB ed agisce come chaperone per assistere il corretto ripiegamento dell'Apo B (65, 66). Il ruolo di MTP nel trasporto e metabolismo dei lipidi è emerso da studi che hanno evidenziato che difetti che risiedono nel gene MTP sono responsabili di abetalipoproteinemia, una condizione caratterizzata dal deficit di sintesi di lipoproteine contenenti ApoB (CM e VLDL).

L'abetalipoproteinemia (ABL; OMIM 200100) è una rara malattia a trasmissione autosomica recessiva causata da mutazioni che interessano entrambi gli alleli del gene MTP; i pazienti affetti mostrano livelli quasi indosabili di ApoB e livelli plasmatici molto bassi di colesterolo. La compromissione dell'assemblaggio delle lipoproteine epatiche ed intestinali è responsabile di malassorbimento di grassi, steatorrea ed accumulo di grassi negli enterociti e negli epatociti (65, 66). La steatorrea è solitamente controllabile con la somministrazione di una dieta povera in grassi fin dall'età pediatrica. Il deficit di vitamine liposolubili (E, A, K e D) rappresenta un altro tratto distintivo della malattia in quanto l'assorbimento e il trasporto di queste vitamine è dipendente dalle LRT di origine intestinale. L'ipovitaminosi se non trattata precocemente con la supplementazione è responsabile di vari disturbi neurologici tra cui degenerazione spino-cerebellare, neuropatie periferiche e retinite pigmentosa (66-68) (*Figure 4a*).

La scoperta di difetti molecolari che inattivano MTP e causano di ABL ha suggerito che l'inibizione di MTP poteva rappresentare un nuovo target farmacologico per la riduzione dei livelli plasmatici di colesterolo. Recentemente in uno studio di fase 3 un inibitore farmacologico di MTP, lomitapide, è stato usato con successo come

trattamento aggiuntivo nei pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) (69, 70). L'ipobetalipoproteinemia omozigote (Ho-HBL; OMIM 107730) è un altro disordine estremamente raro causato da mutazioni in entrambi gli alleli del gene APOB e caratterizzato da una alterazione dell'assemblaggio e della secrezione di lipoproteine contenenti apoB (71, 72).

La maggior parte di questi soggetti sono portatori di mutazioni del gene APOB che codificano per forme più corte di apoB o più raramente per sostituzioni amminoacidiche non conservative (73, 74). Le manifestazioni cliniche osservabili nei pazienti Ho-FHBL geneticamente caratterizzati sono estremamente variabili con un spettro di presentazione che varia dall'assenza di sintomi a manifestazioni cliniche sovrapponibili a quelle dell'ABL (73, 74).

Quando le forme di apoB troncate sono più corte dell'apoB-48, la forma di apoB prodotta dall'intestino ed assemblata nei chilomicroni, perdono la capacità di legare i lipidi e pertanto si instaura un deficit di secrezione dei CM a livello intestinale (72-74). La malattia da accumulo di chilomicroni (CMRD) o Malattia di Anderson (OMIM #607689) è un raro disordine autosomico recessivo diagnosticato solitamente nell'infanzia caratterizzato clinicamente da diarrea cronica, ritardo di crescita, ipocolesterolemia e ridotti livelli plasmatici di vitamine liposolubili (73, 74). Il difetto molecolare è stato identificato nel 2003 e consiste in mutazioni del gene SAR1B che codifica per la proteina intracellulare Sar1b (23, 28, 30). Questa proteina è coinvolta nel trasporto dei chilomicroni attraverso la via secretoria (vedi paragrafo: Secrezione dei chilomicroni).

Gli enterociti della mucosa digiunale di questi pazienti non riescono a secernere CM nella linfa e di conseguenza sono infarcati di goccioline lipidiche di varie dimensio-

ni (75). La superficie della mucosa dell'intestino tenue osservata endoscopicamente appare ricoperta da uno strato biancastro. Tensione addominale, osteomalacia e rachitismo sono stati osservati in numerosi casi. La steatosi epatica può essere presente ma non sono stati descritti casi di evoluzione verso stadi avanzati di patologia epatica (76).

La CMRD è distinguibile clinicamente da ABL e Ho-FHBL per l'assenza di acantocitosi, retinite pigmentosa e sintomi neurologici severi e per la presenza di lipoproteine circolanti contenenti apoB-100.

L'ipertrigliceridemia (HTG) rappresenta l'alterazione del profilo lipidico caratteristico dell'iperlipidemia tipo 1 e di tipo 5 secondo la classificazione di Fredrickson. L'iperlipidemia di tipo 5 è caratterizzata da

un fenotipo misto caratterizzato da elevati livelli di particelle "remnants" dei CM e delle VLDL (77). La sindrome clinica, identificata come iperlipoproteinemia di tipo I, nota anche come chilomicronemia familiare, è caratterizzata da ipertrigliceridemia massiva, dolore addominale, pancreatiti, xantomi eruttivi ed epato-splenomegalia ed ha una frequenza stimata di circa 1:1.000.000 nella popolazione generale (76-78).

Mutazioni a carico dei geni codificanti per LPL e APOC-II (78-80) e nei geni APOA-V, LMF1 e GPIHBP1 (81-83) (Figura 3) sono causa di forme monogeniche di chilomicronemia familiare. Gli individui affetti sono portatori di mutazioni in omizigosi o eterozigosi composta che causano perdita di funzione dei prodotti proteici di

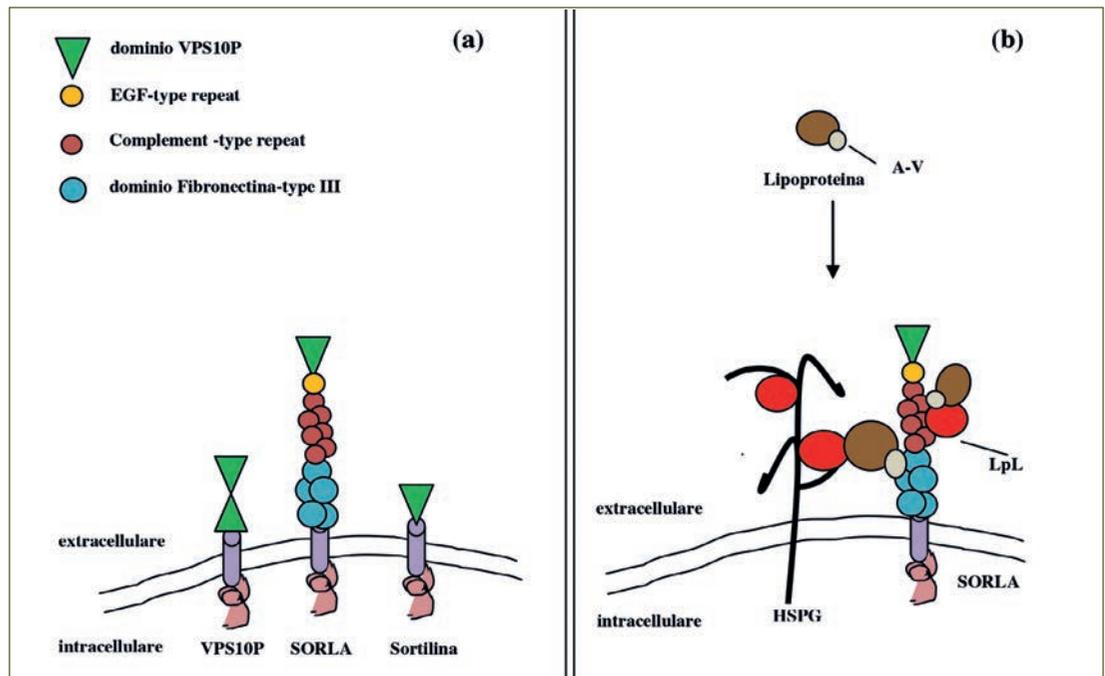


Figura 5 - Idrolisi delle TRL mediata dalla lipoproteina lipasi.

Una volta secreti in circolo, i chilomicroni ricchi in trigliceridi (TG) interagiscono con la lipoproteina lipasi (LpL) adesa alle cellule endoteliali dei capillari tramite le catene polisaccaridiche dei proteoglicani (in marrone). Gli acidi grassi liberi e il glicerolo derivanti dalla lipolisi dei TG si legano all'albumina e vengono trasportati ai tessuti periferici: al tessuto adiposo (nel quale i TG sono immagazzinati); al tessuto muscolare, dove costituiscono una fonte energetica; al fegato, dove avviene la sintesi di TG.

questi geni direttamente coinvolti nella regolazione del catabolismo delle LRT.

La presenza di elevati livelli di CM circolanti a digiuno solitamente non si associa a sviluppo di aterosclerosi precoce, probabilmente perché le dimensioni dei CM rappresentano un limite alla capacità di queste particelle di penetrare la barriera endoteliale (78, 83).

Il deficit di LPL (LPLD) può essere diagnosticato con tecniche biochimiche che prevedono la misurazione dell'attività enzimatica di LPL nel plasma post-eparinico oppure nel tessuto adiposo (84) anche se l'attuale "gold standard" per la diagnosi di Chilomicronemia Familiare è l'analisi genetico-molecolare per l'identificazione di mutazioni patogenetiche di LPL e/o degli altri geni candidati (83) (*Figure 4b*).

Ruolo emergente delle Sortiline nell'assemblaggio delle lipoproteine ricche in trigliceridi

La Sortilina-1 fa parte di una famiglia di recettori chiamati Vps10p (vacuolar protein sorting 10 proteins) localizzati nel Golgi (85). Regola la rimozione delle particelle contenenti apoB (85) con un meccanismo ancora poco noto ma sembra essere concentrazione dipendente (85).

Recentemente, è stato proposto che ApoA-V svolga l'attività di cofattore per LPL attraverso il legame con la sortilina o di altre sortiline tra cui SORLA (*Figura 5*; 86, 87). SORLA è un recettore multifunzione espresso nei macrofagi e nelle cellule muscolari lisce (SMC) (88). SORLA potrebbe agire come fattore pro-aterogeno promuovendo la migrazione delle SMC verso l'intima e modulando i livelli di trigliceridi tramite l'attivazione di LPL dipendente da apoA-V (87).

L'espressione del gene SORLA è inoltre modulata da fattori che inducono stress

Tabella I - Fattori intestinali ed extra-intestinali che controllano la sintesi e la secrezione delle lipoproteine da parte dell'intestino.

| Fattori intestinali | Fattori extra-intestinali |
|---------------------|---------------------------|
| CD 36 | LPL |
| FABP | ApoC-II |
| MTP | LMF-1 |
| ApoB-48 | GPIHBP1 |
| ApoA-I | ApoA-V |
| ApoA-IV | SORTILINA |
| PCTV | |
| SAR1B | |
| COPII | |
| GLP-1 | |
| GLP-2 | |
| DPP-4 | |

del RE, che sta emergendo come un importante modulatore dei processi coinvolti nell'aterogenesi e nella secrezione di LRT (87, 88).

Inoltre, dati recenti derivanti da studi di associazione "genome-wide" (GWAS) hanno sottolineato il ruolo della sortilina-1 (SORT-1) come gene implicato nella regolazione dei livelli dei lipidi plasmatici e nelle malattie cardiovascolari su base aterosclerotica (89, 90).

Nella *Tabella 1* vengono elencati i fattori intestinali ed extra-intestinali che controllano la sintesi e la secrezione delle TRL.

Conclusioni

La produzione intestinale di lipoproteine è un processo complesso e a passaggi multipli che coinvolge parecchie e svariate vie metaboliche, coinvolgendo diversi geni. Le recenti acquisizioni nella comprensione dei meccanismi intestinali ed extra-intestinali che regolano la sintesi, la secrezione ed i rapporti delle LRT con l'aterosclerosi, rappresentano le basi per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per il trattamento di disordini genetici del metabolismo delle lipoproteine ricche di trigliceridi.

Glossario

ApoA-I - apolipoproteina A-I. Rappresenta il componente proteico principale delle HDL, che presiedono al trasporto inverso del colesterolo, veicolando i lipidi in eccesso dai tessuti periferici al fegato. L'ApoA-I si comporta come cofattore dell'enzima LCAT (Lecitina Colesterolo Acil Transferasi), capace di esterificare il colesterolo, che in questo modo viene reso completamente idrofobo, e lo distribuisce ai vari tessuti, incorporandolo nelle HDL.

ApoA-IV - apolipoproteina A-IV. È una proteina plasmatica sintetizzata nell'intestino e secreta in circolo sulla superficie dei chilomicroni nascenti. È implicata nell'assorbimento dei lipidi alimentari, ma svolge anche altre funzioni, in quanto regola l'appetito e la sazietà ed esplica anche funzioni antiaterogene e antiossidanti.

ApoA-V - apolipoproteina A-V. È uno dei principali costituenti dei chilomicroni, delle HDL e delle VLDL. È un importante determinante dei livelli plasmatici di trigliceridi in quanto è coinvolta nella lipolisi delle lipoproteine ricche in TG, in particolare media il rimodellamento delle VLDL e la loro clearance. Agisce sia da induttore dell'idrolisi dei trigliceridi mediata da apoC-II ed LPL sia da inibitore della produzione epatica dei trigliceridi delle VLDL.

Apo B - apolipoproteina B. È la principale componente proteica delle LDL, delle VLDL e dei chilomicroni (che veicolano i trigliceridi di origine endogena ed esogena). L'Apo B è essenziale per l'assemblaggio, la secrezione e il metabolismo di queste lipoproteine. Esistono due isoforme di Apo B: apoB-100, prodotta a livello epatico e apoB-48, sintetizzata esclusivamente a livello dell'intestino tenue come prodotto di editing dell'RNA del gene APOB, processo in cui si genera un codone di stop (UAA) a livello del residuo 2153 del gene. Come risultato di questo editing genomico, ApoB-48 e apoB-100 condividono una stessa regione N-terminale, ma apoB-48 perde la regione C-terminale di apoB-100 legante il recettore per LDL. ApoB-48 inoltre è così chiamata perché rappresenta il 48% della sequenza di apoB-100.

ApoC-II - apolipoproteina C-II. È una proteina circolante che rappresenta uno dei costituenti delle VLDL e dei chilomicroni. È l'attivatore della LPL, che idrolizza i trigliceridi plasmatici rendendo disponibili acidi grassi liberi per le cellule.

ApoC-III - apolipoproteina C-III. È una proteina costituente essenziale delle lipoproteine ricche di trigliceridi (chilomicroni intestinali e VLDL epatiche). Inibisce sia la lipasi lipoproteina che la lipasi epatica.

CD 36 - cluster differentiation 36. Appartie-

ne alla famiglia di glicoproteine espresse sulla superficie piastrinica, funge da recettore per la trombospodina e agisce come molecola di adesione cellulare. Si lega al collagene, alla trombospodina, ai fosfolipidi, alle LDL ossidate (LDL-ox) e agli acidi grassi a catena lunga, agendo da trasportatore e/o regolatore del trasporto di questi ultimi. Media inoltre la citoaderenza del *Plasmodium falciparum* agli eritrociti infettati.

COPII - coatomer protein complex. È un tipo di proteina di rivestimento vescicolare che trasporta proteine dal reticolo endoplasmatico rugoso (RER) al complesso di Golgi (trasporto anterogrado). Il rivestimento è caratterizzato da sottocomplessi costituiti da quattro diverse subunità proteiche.

DPP-4 - dipeptidil-peptidasi 4. È una proteina espressa sulla superficie di molti tipi cellulari ed è associata a processi di immunoregolazione, trasduzione del segnale e apoptosi. Gioca un ruolo importante nel metabolismo glucidico ed è responsabile della degradazione di incretine tra cui GLP-1. Pare che sia coinvolta anche nella tumorigenesi e nella progressione tumorale.

FABPs - fatty acid binding proteins. Sono piccole proteine citosoliche di trasporto appartenenti ad una famiglia multigenica espressa in diversi tessuti, tra cui intestino, fegato, muscolo scheletrico, miocardio, tessuto adiposo, epidermide, cervello. Legano gli acidi grassi e altre sostanze lipofile come eicosanoidi e retinoidi, di cui ne regolano l'immagazzinamento e il trasporto intracellulare.

GLP-1 - glucagone-like peptide 1. È un'incrina (ormone proteico gastrointestinale) prodotta dalle cellule L ileali. Induce la secrezione di insulina e sopprime quella del glucagone. Ha un'emivita di meno di 2 minuti in quanto viene rapidamente degradata dall'enzima dipeptidil-peptidasi 4 (DPP-4). GLP-1 inibisce l'apoptosi delle cellule beta pancreatiche e ne induce la proliferazione e la differenziazione in cellule insulino-secerenti. Inibisce inoltre la secrezione e la motilità gastriche, ritardando pertanto l'assorbimento dei carboidrati e contribuendo a determinare un effetto di sazietà.

GLP-2 - glucagone-like peptide 2. È un'incrina (ormone proteico gastrointestinale) prodotta dalle cellule L ileali e da alcuni neuroni del SNC. Viene secreta in concomitanza a GLP-1 durante la digestione dei nutrienti. È coinvolta nei processi di proliferazione e induzione delle funzioni intestinali, nella neuroprotezione e nella riduzione del riassorbimento osseo. Viene rapidamente degradata da DPP-4.

GPIHBP1 - glycosylphosphatidylinositol an-

core high density lipoprotein binding protein-1: È una proteina delle cellule endoteliali dei capillari che dispensa una piattaforma per l'idrolisi dei chilomicroni mediata dalla lipoproteina lipasi.

GWAS - genome-Wide Association Study (studio di associazione su scala genomica)

HDL - high density lipoprotein (lipoproteine ad alta densità).

LDL - low density lipoprotein (lipoproteine a bassa densità).

LMF-1 - lipase Maturation Factor-1 (fattore di maturazione della lipoproteina lipasi). Si trova nel reticolo endoplasmatico ed è coinvolto nella maturazione e nel trasporto della lipoproteina lipasi nell'ambito del meccanismo di secrezione. Mutazioni geniche di questo fattore sono associate al deficit combinato di lipasi.

LPL - lipasi lipoproteina. È un enzima presente nelle cellule endoteliali che rivestono la superficie interna dei capillari sanguigni. È sintetizzata principalmente a livello del tessuto muscolare scheletrico, di quello adiposo e del miocardio. La funzione della LPL è quella di idrolizzare i trigliceridi contenuti nelle lipoproteine (chilomicroni e VLDL) producendo acidi grassi e glicerolo, che successivamente potranno entrare nella cellula ed essere ossidati tramite beta ossidazione (muscolo scheletrico e cardiaco) oppure essere re-sintetizzati in trigliceridi nel tessuto adiposo ed essere accumulati.

MTP - proteina di trasferimento microsomiale di trigliceridi. È una proteina richiesta per l'assemblaggio e la secrezione delle lipoproteine contenenti apoB (VLDL nel fegato e chilomicroni nell'intestino). Fegato e intestino sono gli organi con maggiore espressione di MTP, ma la proteina è espressa anche in altre cellule tra cui quelle cardiache.

PTCV - prechylomicron transport vesicles (vescicole di trasporto dei prechilomicroni). Proteine coinvolte nella formazione, trasporto, lipidazione e assemblaggio delle particelle di chilomicroni (CM). Hanno un diametro di 350-500 nm e sono pertanto capaci di trasportare particelle di grosse dimensioni come i chilomicroni.

Sar1b - secretion associated, Ras related GTPase 1B. È una piccola GTPasi coinvolta nel trasporto delle proteine dal reticolo endoplasmatico al Golgi. Fa parte del complesso COPII. Difetti genetici di questo fattore sono causa della Malattia da ritenzione di chilomicroni (CMRD), nota anche come malattia di Anderson.

Sortilina - è una proteina che partecipa a svariati processi cellulari. Esiste un'associazione genomica con le lipoproteine sieriche. Negli epatociti partecipa alla degradazione presecretoria delle particelle di VLDL nascenti.

VLDL - very low density lipoprotein (lipoproteine a densità molto bassa).

RIASSUNTO

La sintesi di lipoproteine di origine intestinale è un processo sequenziale, necessario per l'assorbimento dei lipidi e delle vitamine liposolubili di origine alimentare. L'assemblaggio dei chilomicroni inizia nel reticolo endoplasmatico con la formazione di particelle ricche di fosfolipidi che sono poi trasportate al Golgi per essere secrete. Diverse classi di trasportatori giocano un ruolo sia nell'assorbimento selettivo che nel trasporto di lipidi attraverso i villi intestinali. Una volta secrete nel circolo linfatico, le lipoproteine ricche di trigliceridi (LRT) sono sottoposte all'azione della Lipasi Lipoproteica (LPL), che catalizza l'idrolisi dei triacilgliceroli delle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) e dei chilomicroni, recapitando in questo modo gli acidi grassi liberi ai diversi tessuti. Mutazioni a carico dei geni che codificano per queste proteine sono responsabili di disordini ereditari che coinvolgono il metabolismo dei chilomicroni. In questo articolo focalizzeremo la nostra attenzione sui meccanismi molecolari che modulano l'assorbimento e il trasporto delle lipoproteine di origine intestinale e illustreremo alcune recenti evidenze sull'assemblaggio delle LRT.

Parole chiave: *chilomicroni, lipoproteine ricche in trigliceridi, assemblaggio, secrezione, disordini ereditari.*

Bibliografia

1. Hamilton RL. Synthesis and secretion of plasma lipoproteins. *Adv Exp Med Biol.* 1972; 26: 7-24.
2. Mansbach CM, Gorelick FS. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007; 293: G645-G650.
3. Abumrad NA, el-Maghrabi MR, Amri EZ, et al. Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte

- differentiation. Homology with human CD 3-6. *J Biol Chem.* 1993; 268: 17665-17668.
4. Khosrow A, Lewis GF. Intestinal lipoprotein overproduction in insulin-resistant states. *Curr. Opin. Lipid.* 2008; 19: 221-228.
 5. Cartwright U, Plonné D, Higgins JA. Intracellular events in the assembly of chylomicrons in rabbit enterocytes. *J Lipid Res.* 2000; 41: 1728-1739.
 6. Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis *Physiol Rev.* 2012; 92: 1061-1085.
 7. Kumar NS, Mansbach CM. 2nd Prechylomicron transport vesicle: isolation and partial characterization. *Am J Physiol.* 1999; 276: G378-G386.
 8. Levy E, Stan S, Delvin E, et al. Localization of microsomal triglyceride transfer protein in the Golgi: possible role in the assembly of chylomicrons. *J Biol Chem.* 2002; 277: 16470-16477.
 9. Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 2000; 148: 1-15.
 10. Jones B, Jones EL, Bonney SA, et al. Mutations in a Sar1 GTPase of COPII vesicles are associated with lipid absorption disorders. *Nat Genet.* 2003; 34: 29-31.
 11. Endemann G, Stanton LW, Madden KS, et al. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1993; 268: 11811-11816.
 12. Silverstein RL, Febbraio M. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior. *Sci Signal.* 2009; 26: 2, re3.
 13. Greenwalt DE, Scheck SH, Rhinehart-Jones T. Heart CD 36 expression is increased in murine models of diabetes and in mice fed a high fat diet. *J Clin Invest.* 1995; 96: 1382-1388.
 14. Coburn CT, Knapp FF Jr, Febbraio M, et al. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem.* 2000; 275: 32523-32529.
 15. Hajri T, Han XX, Bonen A, et al. Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice. *J Clin Invest.* 2002; 109: 1381-1389.
 16. Hirano K, Kuwasako T, Nakagawa-Toyama Y, et al. Pathophysiology of human genetic CD36 deficiency. *Trends Cardiovasc Med.* 2003; 13: 136-141.
 17. Love-Gregory L, Sherva R, Schappe T, et al. Common CD36 SNPs reduce protein expression and may contribute to a protective atherogenic profile. *Hum Mol Genet.* 2011; 20: 193-201.
 18. Ma X, Bacci S, Mlynarski W, Gottardo L, et al. A common haplotype at the CD36 locus is associated with high free fatty acid levels and increased cardiovascular risk in Caucasians. *Hum Mol Genet.* 2004; 13: 2197-2205.
 19. Yamashita S, Hirano K, Kuwasako T, et al. Physiological and pathological roles of a multi-ligand receptor CD36 in atherogenesis; insights from CD36-deficient patients. *Mol Cell Biochem.* 2007; 299: 19-22.
 20. Storch J, Thumser AE. Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family. *J Biol Chem.* 2010; 285: 32679-32683.
 21. Chen Z, Davidson NO. IRE1 α -XBP1s induces PDI expression to increase MTP activity for hepatic VLDL assembly and lipid homeostasis. *Cell Metab.* 2012; 16: 473-486.
 22. Davidson NO, Shelness GS. Apolipoprotein B: mRNA editing, lipoprotein assembly, and pre-secretory degradation. *Ann Rev Nutr.* 2000; 20: 169-193.
 23. Hussain MM, Fatma S, Pan X, Iqbal J. Intestinal lipoprotein assembly. *Curr Opin Lipidol.* 2005; 16: 281-285.
 24. Liang JS, Wu X, Fisher EA, Ginsberg HN. The amino-terminal domain of apolipoprotein B does not undergo retrograde translocation from the endoplasmic reticulum to the cytosol. Proteasomal degradation of nascent apolipoprotein B begins at the carboxyl terminus of the protein, while apolipoprotein B is still in its original translocon. *J Biol Chem.* 2000; 275: 32003-32010.
 25. Fisher EA, Pan M, Chen X, et al. The triple threat to nascent apolipoprotein B. Evidence for multiple, distinct degradative pathways. *J Biol Chem.* 2001; 276: 27855-27863.
 26. Barlowe C, Orci L, Yeung T, Hosobuchi M, et al. COPII: a membrane coat formed by Sec proteins that drive vesicle budding from the endoplasmic reticulum. *Cell.* 1994; 77: 895-907.
 27. Ikonen E. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9: 125-138.
 28. Shoulders CC, Stephens DJ, Jones B. The intracellular transport of chylomicrons requires the small GTPase, Sar1b. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 191-197.
 29. Shoulders CC, Jones B, Duncan EJ, et al. The endoplasmic reticulum coat protein II transport machinery coordinates cellular lipid secretion and cholesterol biosynthesis. *J Biol Chem.* 2014; 289: 4244-4261.
 30. Cefalù AB, Calvo PL, Noto D, et al. Variable phenotypic expression of chylomicron retention disease in a kindred carrying a mutation of the Sara2 gene. *Metabolism.* 2010; 59: 463-467.
 31. Jones B, Jones EL, Bonney SA, et al. Mutation in a Sar1 GTPase of COPII vesicles are associated with lipid absorption disorders. *Nat Genet* 2003; 34: 29-31.

32. Ojakian RP, Ojakian GK, Shelness GS, Hussain MM. Phospholipid transfer activity of microsomal triacylglycerol transfer protein is sufficient for the assembly and secretion of apolipoprotein B lipoproteins. *J Biol Chem.* 2006; 281: 11019-11027.
33. Abumrad NA, Davidson NO. Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev.* 2012; 92: 1061-1085.
34. Mansbach CM, Siddiqi SA. The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol.* 2010; 72: 315-333.
35. Siddiqi SA, Saleem U, Abumrad NA, et al. A novel multiprotein complex is required to generate the prechylomicron transport vesicle from intestinal ER. *J Lip Res.* 2010; 51: 1918-1928.
36. Voshol PM, Minich DM, Havinga R, et al. Postprandial chylomicron formation and fat absorption in multidrug resistance gene 2 P-glycoprotein-deficient mice. *Gastroenterology.* 2000; 118: 173-182.
37. Lu S, Yao Y, Cheng X, Mitchell S, et al. Overexpression of apolipoprotein A-IV enhances lipid secretion in IPEC-1 cells by increasing chylomicron size. *J Biol Chem.* 2006; 281: 3473-3483.
38. Apfelbaum TF, Davidson NO, Glickman RM. Apolipoprotein A-IV synthesis in rat intestine: regulation by dietary triglyceride. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1987; 252: G662-G666.
39. Elshourbagy NA, Walker DW, Paik YK, et al. Structure and expression of the human apolipoprotein A-IV gene. *J Biol Chem.* 1987; 262: 7973-7981.
40. Kumar NS, Mansbach CM 2nd. Prechylomicron transport vesicle: isolation and partial characterization. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1999; 276: G378-G386.
41. Hayashi H, Nutting DF, Fujimoto K, et al. Transport of lipid and apolipoproteins A-I and A-IV in intestinal lymph of the rat. *J Lipid Res.* 1990; 31: 1613-1625.
42. Ohta T, Fidge NH, Nestel PJ. Studies on the in vivo and in vitro distribution of apolipoprotein A-IV in human plasma and lymph. *J Clin Invest.* 1985; 76: 1252-1260.
43. Weinberg RB, Dantzker C, Patton CS. Sensitivity of serum apolipoprotein A-IV levels to changes in dietary fat content. *Gastroenterology.* 1990; 98: 17-24.
44. Zannis VI, Breslow JL, Katz AJ. Isoproteins of human apolipoprotein A-IV demonstrated in plasma and intestinal organ culture. *J Biol Chem.* 1980; 255: 8612-8617.
45. Cohen RD, Castellani LW, Qiao JH, et al. Reduced aortic lesions and elevated high density lipoprotein levels in transgenic mice overexpressing mouse apolipoprotein A-IV. *J Clin Invest.* 1997; 99: 1906-1916.
46. Duverger N, Tremp G, Caillaud JM, et al. Protection against atherogenesis in mice mediated by human apolipoprotein A-IV. *Science.* 1996; 273: 966-968.
47. Dvorin E, Gorder NL, Benson DM, et al. Apolipoprotein A-IV. A determinant for binding and uptake of high density lipoproteins by rat hepatocytes. *J Biol Chem.* 1986; 261: 15714-15718.
48. Kohan AB, Wang F, Li X, et al. Is apolipoprotein A-IV rate limiting in the intestinal transport and absorption of triglyceride? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013; 304: G1128-G1135.
49. Wang F, Kohan AB, Kindel TL, et al. Apolipoprotein A-IV improves glucose homeostasis by enhancing insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci.* 2012; 109: 9641-9646.
50. Kohan AB, Wang F, Li X, et al. Apolipoprotein A-IV regulates chylomicron metabolism-mechanism and function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012; 302: G628-G636.
51. Culnan DM, Cooney RN, Stanley B, Lynch CJ. Apolipoprotein A-IV, a putative satiety/antiatherogenic factor, rises after gastric bypass. *Obesity (Silver Spring).* 2009; 17: 46-52.
52. Hsieh J, Longuet C, Baker CL, et al. The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamster and mice. *Diabetologia.* 2010; 53: 552-561.
53. Qin X, Shen H, Liu M, et al. GLP-1 reduces intestinal lymph flow, triglyceride absorption, and apolipoprotein production in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005; 288: G943-G949.
54. Hein GJ, Baker C, Hsieh J, et al. GLP-1 and GLP-2 as yin and yang of intestinal lipoprotein production: evidence for predominance of GLP-2 stimulated post-prandial lipemia in normal and insulin-resistant states. *Diabetes.* 2013; 62: 373-381.
55. Dash S, Xiao C, Morgantini C, et al. Glucagon-Like Peptide-2 Regulates Release of Chylomicrons From the Intestine. *Gastroenterology.* 2014; 147: 1275-1284.
56. Estall JL, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-2. *Annu Rev Nutr.* 2006; 26: 391-411.
57. Xiao C, Dash S, Lewis GF. Mechanisms of incretin effects on plasma lipids and implications for the cardiovascular system. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2012; 10: 289-294.
58. Matikainen N, Taskinen MR. The effect of vildagliptin therapy on atherogenic postprandial remnant particles size and LDL particle size in subjects with type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2013; 30: 756-757.
59. Cheng CF, Oosta GM, Bensadoun A, et al. Binding of lipoprotein lipase to endothelial cells in culture. *J Biol Chem.* 1981; 256: 12893-12898.
60. Di Filippo M, Marçais C, Charrière S, et al. Post-

- heparin LPL activity measurement using VLDL as a substrate: a new robust method for routine assessment of plasma triglyceride lipolysis defects. *PLoSOne*. 2014; 9: e99721.
61. Gonzales JC, Gordts PL, Foley EM, Esko JD. Apolipoproteins E and AV mediate lipoprotein clearance by hepatic proteoglycans. *J Clin Invest*. 2013; 123: 2742-2751.
 62. Peterfy M, Ben-Zeev O, Mao HZ, et al. Mutations in LMF1 cause combined lipase deficiency and severe hypertriglyceridemia. *Nat Genet*. 2007; 39: 1483-1487.
 63. Beigneux AP, Davies BS, Gin P, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 plays a critical role in the lipolytic processing of chylomicrons. *Cell Metab*. 2007; 5: 279-291.
 64. Davies BS, Beigneux AP, Barnes RH 2nd, et al. GPIHBP1 is responsible for the entry of lipoprotein lipase into capillaries. *Cell Metab*. 2010; 12: 42-52.
 65. Kane JP. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, (6th Edition) Scriver CR (Ed.), Mc Graw-Hill, New York, USA. 1989; 1345: 136.
 66. Wetterau JR, Lin MC, Jamil H. Microsomal triglyceride transfer protein. *Biochim Biophys Acta*. 1997; 1435: 136-150.
 67. Hussain MM, Rava P, Walsh M, et al. Multiple Functions of microsomal triglyceride transfer protein. *Nutr Metab (Lond)*. 2012; 9: 14.
 68. Haghpassand M, Wilder D, Moberly JB. Inhibition of apolipoprotein B and triglyceride secretion in human hepatoma cells (HepG2). *J Lipid Res*. 1996; 37: 1468-1480.
 69. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, et al. Phase 3 HoFH Lomitapide Study investigators. Efficacy and safety of amicrosomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013; 381: 40-46.
 70. Golberg CA. Emerging low-density lipoprotein therapies: Microsomal triglyceride transfer protein inhibitors. *J Clin Lipidol*. 2013; 7 (Suppl. 3): S16-20.
 71. Schonfeld G Familial hypobetalipoproteinemia: a review. *J. Lipid Res*. 2003; 44: 878-883.
 72. Tarugi P, Averna M. Hypobetalipoproteinemia: genetics, biochemistry, and clinical spectrum. *Adv Clin Chem*. 2011; 54: 81-107.
 73. Lee J, Hegele RA. Abetalipoproteinemia and homozygous hypobetalipoproteinemia: a framework for diagnosis and management. *J. Inherit. Metab. Dis*. 2014; 37: 333-339.
 74. Cefalu AB, Norata GD, Ghigloni DG, et al. Homozygous familial hypobetalipoproteinemia: Two novel mutations in the splicing sites of apolipoprotein B gene and review of the literature. *Atherosclerosis*. 2015; 239: 209-217.
 75. Anderson CM, Townley RR, Freemanm, Johansen P. Unusual causes of steatorrhea in infancy and childhood. *Med J Aust*. 1961; 11: 617-622.
 76. Berriot-Varoqueaux N. Anderson's Disease (Chylomicron Retention Disease). *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 2004; Volume 1. Elsevier Inc.
 77. Brunzell JD, Fujimoto WY. Body fat distribution and dyslipidemia *Am J Med*. 1995; 99: 457-458, 1913-1932.
 78. Brunzell JD, Austin MA. Plasma triglyceride levels and coronary disease. *N Eng J Med*. 1989; 320: 1273-1275.
 79. Auwerx JH, Babirak SP, Fujimoto WY, et al. Defective enzyme protein in lipoprotein lipase deficiency. *Eur J Clin Invest*. 1989; 19: 433-437.
 80. Breckenridge W, Little JA, Steiner G, et al. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Engl J Med*. 1978; 298: 1265-1273.
 81. Marçais C, Verges B, Charrière S, et al. ApoA5 Q139X truncation predisposes to late-onset hyperchylomicronemia due to lipoprotein lipase impairment. *J Clin Invest*. 2005; 115: 2862-2869.
 82. Beigneux A, Franssen R, Bensadoun A, et al. Chylomicronemia with a mutant GPIHBP1 (Q115P) that cannot bind lipoprotein lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 956-962.
 83. Johansen CT, Kathiresan S, Hegele RA. Genetic determinants of plasma triglycerides. *J Lipid Res*. 2011; 52: 189-206.
 84. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, et al. The polygenic nature of hypertriglyceridemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013; 8587: 70191-70198.
 85. Strong A, Rader DJ. Sortilin as a regulator of lipoprotein metabolism. *Curr Atheroscler Rep*. 2012; 14: 211-218.
 86. Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*. 2001; 294: 169-173.
 87. Mendoza-Barbera E, Julve J, Nilsson SK, et al. Structural and functional analysis of APOA5 mutations identified in patients with severe hypertriglyceridemia. *J Lip Res*. 2013; 54: 649-661.
 88. Willnow TE, Kjølbj M, Nykjaer A. Sortilins: new players in lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2011; 22: 79-85.
 89. Strong A, Patel K, Rader DJ. Sortilin and lipoprotein metabolism: making sense out of complexity. *Curr Opin Lipidol*. 2014; 25: 000-000.
 90. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466: 707-713.