

**MECCANISMI DI TERAPIA****CETP ED ATEROSCLEROSI:  
UNA RELAZIONE CONTROVERSA  
IN ATTESA DI SOLUZIONI  
TERAPEUTICHE****CETP and atherosclerosis: a controversial  
relationship waiting for therapeutic solutions****GIUSEPPE BATORI, VANESSA BIANCONI, MASSIMO RAFFAELE MANNARINO,  
MATTEO PIRRO***Medicina Interna, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia***SUMMARY**

In an attempt to elucidate the anti-atherogenic effects of HDLs, a multitude of protective properties of this class of lipoproteins have been identified. Among the others, HDLs are known to exert antioxidant, antithrombotic and anti-inflammatory effects and mediate the reverse cholesterol transport (RCT) from the periphery (including the arterial wall) to the liver and other organs. CETP is an enzyme that, produced in the liver and adipose tissue and associated mainly with circulating HDLs, promotes the transfer of cholesterol esters from HDLs to apolipoprotein B-containing particles (mostly VLDL and LDL) in exchange for triglycerides. There are elements to think that CETP can exert both anti-atherogenic and pro-atherogenic activities. CETP can be seen as an enzyme facilitating the flow of cholesterol to the liver, through the so-called indirect route of RCT, which sees in lipoproteins containing apolipoprotein B the vehicle of cholesterol towards the liver receptors and the excretion of cholesterol through the bile. However, this action is also directly responsible for the decrease of HDL cholesterol levels, to which pro-atherogenic significance is known to be attributed. Although Mendelian randomization studies seem to attribute a pro-atherogenic role to CETP, randomized clinical trials with CETP inhibitors have not produced exciting results. A more careful interpretation of the data currently available on the meaning of CETP in different clinical and experimental settings is therefore necessary to better design therapeutic devices that may modulate the activity of CETP and at the same time produce a favourable impact on cardiovascular risk.

**Keywords:** *CETP; HDL cholesterol; atherosclerosis; reverse cholesterol transport*

**Indirizzo per la corrispondenza**

Matteo Pirro, MD, PhD  
Section of Internal Medicine, Angiology and  
Arteriosclerosis Diseases  
University of Perugia, Perugia, Italy  
Hospital "Santa Maria della Misericordia"  
Piazzale Menghini, 1 – 06156, Perugia, Italy  
E-mail: [matteo.pirro@unipg.it](mailto:matteo.pirro@unipg.it)

**Introduzione**

La proteina di trasferimento degli esteri di colesterolo (CETP) facilita lo scambio di trigliceridi ed esteri del colesterolo tra HDL e lipoproteine contenenti apolipoproteina B (apoB) (1). Questo processo di

trasferimento bidirezionale lipidico è fondamentale nell'uomo per avviare gli esteri del colesterolo ai cosiddetti siti catabolici. Il sistema CETP è generalmente caratteristico delle specie animali superiori; le specie inferiori non sono dotate di questo sistema (1), per tale ragione, queste ultime hanno maggiori quantità di HDL, di dimensioni maggiori ed arricchite in apolipoproteina E (apoE), necessaria all'interazione delle stesse HDL con i recettori dei tessuti periferici.

Da quando CETP è stata identificata per la prima volta le opinioni sul suo presunto ruolo pro- o anti-aterogeno sono risultate assai contrastanti (2). Secondo alcuni CETP svolge un'azione primariamente anti-aterogena in virtù della sua capacità di promuovere il trasporto inverso del colesterolo (RCT), la via attraverso cui il colesterolo nei tessuti periferici viene trasportato nel fegato per l'eliminazione biliare (2). Questo percorso comporta una captazione iniziale del colesterolo cellulare periferico da parte delle HDL, all'interno delle quali il colesterolo viene esterificato prima di essere trasferito dalla CETP alle lipoproteine contenenti apoB. Gli esteri di colesterolo nel pool VLDL/LDL vengono successivamente "consegnati" al fegato e infine eliminati attraverso la bile. Pertanto, nella misura in cui la CETP promuove RCT, può essere considerata un fattore anti-aterogeno (2). Tuttavia, il fatto che CETP trasferisca esteri di colesterolo da lipoproteine anti-aterogene (HDL) a lipoproteine potenzialmente aterogene (VLDL/LDL) implica che l'azione di CETP possa tradursi nella promozione della malattia aterosclerotica (2). La situazione è ulteriormente complicata da una serie di osservazioni secondo cui le proprietà anti-infiammatorie delle HDL, i cui livelli sono ridotti dalla CETP, dipendono dalla concentrazione stessa delle HDL. Pertanto, la

riduzione CETP-mediata dei livelli di HDL colesterolo e la conseguente perdita della funzione anti-infiammatoria di queste lipoproteine possono contribuire alla aterogenicità di CETP (3). Teoricamente CETP può quindi svolgere tanto azioni anti- che pro-aterogene. Questo dilemma ormai assai datato non è stato risolto neppure da studi più recenti, dai quali sono emerse prove a sostegno sia del ruolo pro- che anti-aterogeno.

Studi genetici e di randomizzazione Mendeliana hanno mostrato che varianti polimorfiche del gene *CETP* si associano a livelli aumentati di colesterolo HDL, riduzione dei livelli di colesterolo LDL e minor rischio di sviluppare malattia coronarica aterosclerotica (4-10). Questi dati, unitamente ad una serie di risultati prodotti in studi sperimentali nei modelli animali ed osservazionali nell'uomo, hanno suggerito che l'inibizione farmacologica della CETP potesse essere utile per la prevenzione del rischio cardiovascolare.

### Bullet Points

- CETP media il trasporto bidirezionale di colesterolo esterificato e trigliceridi tra HDL e lipoproteine contenenti apolipoproteina B, svolgendo un ruolo chiave nel trasporto inverso del colesterolo.
- L'attività di CETP, nella misura in cui promuove il trasporto inverso del colesterolo, può essere considerata anti-aterogena.
- CETP arricchisce di esteri di colesterolo le lipoproteine contenenti apolipoproteina B e limita il potere anti-infiammatorio delle HDL, potendo quindi esercitare anche un'azione pro-aterogena.
- Studi genetici e di randomizzazione Mendeliana hanno mostrato che varianti polimorfiche del gene *CETP* associate ad aumentati livelli di HDL colesterolo determinano minor rischio di sviluppare malattia coronarica aterosclerotica.
- Trials clinici randomizzati controllati con CETP-inibitori hanno dimostrato che l'inibizione farmacologica di CETP non offre un beneficio cardiovascolare tale da supportarne l'impiego nella pratica clinica.

Ad oggi, 4 inibitori della CETP sono entrati nella fase 3 della sperimentazione su esiti clinici cardiovascolari (11-15). Lo sviluppo clinico del torcetrapib è stato interrotto a causa degli imprevisti effetti sfavorevoli del farmaco che hanno condotto ad un aumentato rischio di morte nel gruppo in trattamento attivo dello studio ILLUMINATE (The Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events Outcomes) (11-15). I trial clinici con dalcetrapib ed evacetrapib sono stati interrotti precocemente per futilità (11, 13, 14). Nello studio REVEAL (Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid modification), l'anacetrapib, pur raddoppiando i livelli di colesterolo HDL e riducendo quelli di colesterolo non-HDL, ha prodotto una modesta riduzione degli eventi cardiovascolari maggiori, mostrando altresì un inatteso accumulo nel tessuto adiposo (11, 15). Ad oggi, nonostante le premesse fisiopatologiche e genetiche promettenti, l'inibizione di CETP offre un beneficio cardiovascolare insufficiente per l'impiego nella pratica clinica.

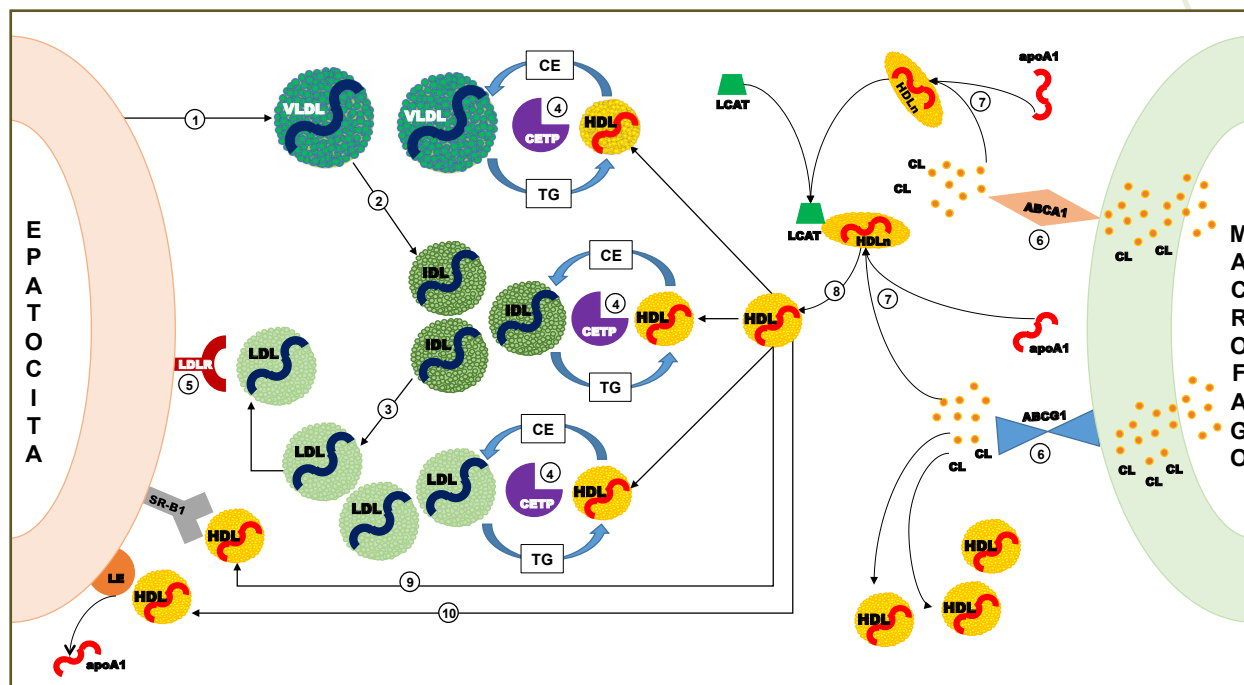
Solo una più attenta interpretazione cumulativa dell'enorme mole di dati, nei diversi *setting* sperimentali e clinici, che cercano di rispondere al quesito riguardante l'azione pro-aterogena od anti-aterogena di CETP, potrà fornire spunti decisivi per lo sviluppo di farmaci modulanti l'attività di questo enzima enigmatico.

### **CETP e trasporto inverso del colesterolo**

Il meccanismo attraverso cui le HDL svolgono la propria azione anti-aterogena è rappresentato principalmente dall'RCT, già ipotizzato alla fine degli anni Sessanta (1). Nello specifico, l'RCT rappresenta la via attraverso cui il colesterolo viene ri-

mosso dai tessuti e veicolato al fegato (*Figura 1*) per essere successivamente eliminato nelle feci attraverso la bile. La via di trasporto in oggetto risulta determinante per regolare l'omeostasi cellulare del colesterolo (16).

Nel contesto dell'aterosclerosi, bersagli cellulari preminenti dell'RCT sono le cellule presenti nello spessore della parete arteriosa, in particolare i macrofagi e, in misura minore, le cellule muscolari lisce vascolari intimali e quelle endoteliali (16). I macrofagi devono il proprio contenuto di colesterolo sia alla sintesi *de novo* che alla fagocitosi di detriti lipidici contenuti o rilasciati da cellule apoptotiche (16). Il sovraccarico macrofagico di colesterolo, presente per lo più in forma non esterificata, promuove alterazioni funzionali e strutturali delle cellule macrofagiche, contribuendo alla loro morte apoptotica (17). La cellula macrofagica, come meccanismo di difesa contro la "tossicità" indotta dall'accumulo di colesterolo libero, utilizza il processo di esterificazione del colesterolo stesso attraverso l'intervento dell'enzima acyl-coenzima A: cholesterol acyltransferase-1 (ACAT1), con conseguente accumulo di colesterolo esterificato in gocce lipidiche intra-citoplasmatiche (2). In aggiunta a quanto descritto, la cellula macrofagica è in grado di indirizzare parte del colesterolo non esterificato, proveniente tra l'altro anche dall'idrolisi delle gocce lipidiche sopra descritte (16), al di fuori della cellula; questo meccanismo di estrusione del colesterolo si realizza attraverso l'azione di trasportatori ATP-dipendenti della famiglia ABC, in particolare ATP binding-cassette transporter 1 (ABCA1) e ATP binding-cassette transporter G1 (ABCG1), la cui trascrizione è stimolata dal fattore di trascrizione sensibile agli steroli liver X receptor (LXR), a sua volta attivato dall'eccesso di colesterolo intra-cellulare (2).



**Figura I** - CETP e trasporto inverso del colesterolo. Le VLDL sono sintetizzate dalla cellula epatica ed immesse nel circolo ematico (1). Le VLDL vengono convertite ad opera della lipasi lipoproteica in IDL (2) e successivamente in LDL (3). CETP trasferisce trigliceridi (TG) da VLDL, IDL ed LDL alle HDL in cambio di colesterolo esterificato (CE) (4). A seguito dell'azione di CETP, le LDL arricchite in colesterolo esterificato vengono captate dal fegato attraverso l'LDLR (via "indiretta" del trasporto inverso del colesterolo) (5). I macrofagi sono in grado di estrudere parte del colesterolo non esterificato attraverso trasportatori ATP-dipendenti della famiglia ABC (ABCA1 e ABCG1) (6). L'apoA1 delipidato agisce da accettore extracellulare di colesterolo non esterificato proveniente dai macrofagi, contribuendo alla formazione delle HDL native (HDLn) immature (7). Il colesterolo non esterificato delle HDL native viene sottoposto ad esterificazione da parte di LCAT, processo che porta alla formazione delle HDL mature (8). Le HDL mature in circolo possono seguire diversi destini: essere sottoposte all'attività enzimatica di CETP, che le impoverisce di colesterolo esterificato e le arricchisce di trigliceridi provenienti dalle lipoproteine contenenti apoB (4); interagire con il recettore SR-B1 epatocitario, che promuove l'uptake selettivo di colesterolo esterificato dalle HDL stesse risparmiandone le componenti proteiche, quali apoA1 (via "diretta" del trasporto inverso del colesterolo) (9); essere rimodellate dalla lipasi epatica (LE) e rilasciare apoA1 delipidato, nuovamente pronta per un nuovo ciclo di trasporto inverso del colesterolo (10).

ABCA1 e ABCG1, nel contesto dell'RCT, rivestono un ruolo chiave e critico nella fase di efflusso cellulare del colesterolo, in particolare a livello delle placche aterosclerotiche, come testimoniato dall'accelerazione del processo aterosclerotico nei topi che ne sono deficitari (18). ABCA1 regola la fuoriuscita di colesterolo non esterificato e fosfolipidi dalla cellula verso l'accettore extra-cellulare costituito dall'apolipoproteina A1 (apoA1), ancora

povera di lipidi o "delipidato" (18), contribuendo alla formazione delle HDL immature di forma discoidale. Il colesterolo non esterificato nelle HDL immature viene sottoposto ad esterificazione da parte di lecitina cholesterol acyltransferase (LCAT) con acquisizione di proprietà idrofobiche e conseguente internalizzazione nel core delle HDL, che acquisisce progressivamente la propria forma matura sferica (18). Le HDL mature possono acquisire ulteriore

colesterolo non esterificato dalle cellule macrofagiche attraverso ABCG1 (19).

Le HDL mature, arricchite di colesterolo esterificato, raggiungono il fegato ed altri tessuti steroidogenici (es. surrene e gonadi), dove si realizza l'interazione con il recettore scavenger receptor class B type 1 (SR-B1); questo processo è facilitato dal rimodellamento lipoproteico prodotto dalla idrolisi di trigliceridi e fosfolipidi da parte delle lipasi epatica ed endoteliale (20, 21). SR-B1 promuove l'*uptake* selettivo di colesterolo dalle HDL risparmiandone le componenti proteiche, quali apoA1, che risultano così rigenerate e pronte per un nuovo ciclo di trasporto inverso (2).

La suddetta modalità di circolazione del colesterolo viene descritta come via "diretta" (HDL-SR-B1) dell'RCT. RCT contempla anche una seconda via "indiretta" di trasporto del colesterolo; il colesterolo esterificato può essere infatti trasferito dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB (VLDL e LDL) in scambio con i trigliceridi (16). Artefice di questo trasferimento bidirezionale di lipidi è l'enzima CETP, glicoproteina plasmatica di 74 KDa (3) prevalentemente associata alle HDL (22) e facente parte della famiglia delle *lipid transfer proteins (LTPs)/lipopolysaccharide binding proteins (LBP)*.

CETP è composta da 476 amminoacidi, codificata nel cromosoma 16 e prodotta nei mammiferi prevalentemente nel fegato (2). La trascrizione del gene *CETP* è sotto il controllo di diversi fattori intrinseci ed estrinseci, quali l'incremento dei livelli del colesterolo e degli acidi biliari, rispettivamente attraverso l'azione dei fattori di trascrizione LXR e farnesoid X receptor (FXR) (23, 24).

Il trasferimento bidirezionale dei lipidi mediato da CETP consta di due meccanismi principali (3). Nel primo meccanismo CETP funge da "navetta" per i lipidi, scon-

trandosi casualmente e ripetutamente con le lipoproteine e determinando quindi lo scambio di trigliceridi e colesterolo esterificato nel contesto del complesso formato tra CETP e le diverse lipoproteine (3). Nel secondo meccanismo, invece, si assiste allo scambio di molecole lipidiche attraverso la formazione di un ponte tra CETP, HDL e lipoproteine contenenti apoB; tale scambio si basa sulla presenza di un peculiare tunnel centrale continuo nella struttura di CETP (3).

A seguito dell'azione di CETP, le VLDL e le LDL arricchite in colesterolo esterificato vengono captate dal fegato attraverso il recettore per le LDL (LDLR), configurando quindi la via "indiretta" del trasporto inverso del colesterolo (HDL-LDL/VLDL-LDLR) (2, 16). L'idrolisi delle HDL arricchite in trigliceridi mediata dalla lipasi epatica (2) contribuisce al rimodellamento delle HDL ed alla generazione di apoA1 povera in lipidi e fruibile per ulteriori cicli di RCT.

La tappa finale dell'RCT prevede l'eliminazione fecale del colesterolo attraverso due vie principali:

- la via epato-biliare, responsabile di circa il 65% dell'eliminazione fecale di colesterolo, che consiste nella idrolisi del colesterolo esterificato e nella successiva escrezione del colesterolo libero nei canalicoli biliari attraverso i trasportatori ATP binding cassette G5 (ABCG5) e ATP binding cassette G8 (ABCG8), direttamente o previa conversione ad acido biliare (16);
- la via di efflusso del colesterolo trans-intestinale (TICE) che prevede l'eliminazione diretta di colesterolo plasmatico nel lume intestinale attraverso gli stessi trasportatori presenti nella via epato-biliare (21) e che risulta responsabile della restante (35%) quota di eliminazione del colesterolo (25).



### Altre funzioni di CETP

Il ruolo determinante di CETP nel trasporto inverso di colesterolo ed il suo potenziale impatto sulla storia naturale della malattia aterosclerotica ha portato ad importanti progressi nello studio delle funzioni biologiche di CETP.

Le HDL, oltre ad occupare un ruolo centrale nell'RCT, partecipano alla modulazione della risposta immunitaria innata grazie alla loro capacità di sequestrare lipidi patogeni quali il lipopolisaccaride (LPS) e neutralizzarli attraverso l'eliminazione epatica (26). Studi sperimentali su topi transgenici per *CETP* umano attribuirebbero a quest'ultima molecola un ruolo protettivo nell'immunità innata; infatti, CETP sarebbe in grado sia di promuovere il sequestro di LPS da parte di HDL e LDL e la sua successiva eliminazione epatica attraverso LDLR e SR-B1 (27), sia di ridurre il rilascio di citochine pro-infiammatorie indotte da LPS (28). Studi effettuati sull'uomo suggeriscono invece maggiore cautela nel valorizzare il potenziale ruolo anti-infiammatorio di CETP. In particolare, in uno studio prospettico condotto in pazienti ospedalizzati con sepsi severa, è stata apprezzata una relazione diretta tra la riduzione dei livelli di CETP occorsa durante i primi giorni della sepsi e la mortalità (29). Tuttavia, un secondo studio indica come il guadagno nella funzione biologica sottesa a varianti polimorfiche di CETP sembrerebbe determinare una maggiore riduzione dei livelli di HDL in corso di sepsi facendo venir meno il ruolo protettivo svolto da queste lipoproteine e riducendo i tassi di sopravvivenza (30).

CETP viene espresso anche dagli adipociti presenti nel tessuto adiposo sottocutaneo. In questi promuove in modo significativo l'*uptake* e quindi il deposito di colesterolo via HDL (31), svolgendo un

ruolo importante nell'omeostasi del rapporto colesterolo/trigliceridi all'interno degli adipociti stessi (2). Studi sul ruolo dei polimorfismi di *CETP* nella modulazione dell'espansione del grasso viscerale hanno dimostrato che elevati livelli di CETP esercitano un ruolo protettivo in condizioni di sovra-alimentazione (32) e sono inversamente proporzionali ai principali *markers* di adiposità (2). Seppure le basi biochimiche dell'effetto anti-adipogenico di CETP non siano state ancora del tutto chiarite, sembrerebbe che parte di questo effetto sia mediato dal trasporto preferenziale CETP-mediato degli acidi grassi non esterificati verso il fegato a discapito del tessuto adiposo ed al concomitante accumulo di colesterolo negli adipociti con contestuale incremento del rapporto colesterolo/trigliceridi (2).

Elevati livelli di colesterolo sono spesso correlati ad un'aumentata produzione di  $\beta$ -amiloide, componente fondamentale nell'eziopatogenesi della malattia di Alzheimer (33). In tale contesto, le HDL sembrano svolgere un ruolo protettivo nei confronti della malattia di Alzheimer visto che livelli più alti di HDL colesterolo risultano inversamente correlati al rischio di sviluppare demenza e malattia di Alzheimer (34). Poiché CETP interviene attivamente nella modulazione dei livelli di HDL colesterolo, si è cercato di definire il suo ruolo nella storia naturale del deterioramento cognitivo e della malattia di Alzheimer. A tale riguardo si è visto che diversi polimorfismi di *CETP* mostrano una relazione inversa o diretta con il rischio di sviluppare malattia di Alzheimer e deterioramento cognitivo; il contributo delle varianti geniche di *CETP* sembra essere fortemente dipendente dall'espressione dell'isoforma  $\epsilon 4$  di apoE, principale fattore predisponente allo sviluppo della malattia di Alzheimer (35).

### CETP: effetti pro-aterogeni

CETP, per la sua azione biologica nel metabolismo delle lipoproteine e nel trasporto inverso del colesterolo, è stato oggetto di numerosi studi sperimentali nei diversi modelli animali e nell'uomo al fine di definirne il suo ruolo nel processo aterosclerotico e cercare di delineare nuove strategie terapeutiche finalizzate a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari su base aterosclerotica.

Il ruolo "fisiologicamente" attribuibile a CETP è quello pro-aterogeno (*Tabella 1*). CETP determina infatti una riduzione nella concentrazione plasmatica di HDL colesterolo e quindi un decremento nel trasporto HDL-mediato di colesterolo al fegato, inficiando quindi la funzione atero-protettiva svolta dalle HDL e dalla cosiddetta via "diretta" del trasporto inverso di colesterolo (21). Inoltre, l'arricchimento di colesterolo esterificato, mediato da CETP, delle lipoproteine contenenti apoB è in grado di promuovere un aumentato trasporto dello stesso colesterolo verso i tessuti periferici, tra cui la parete dei vasi (2). Si è visto che l'effetto pro-aterogeno di CETP mediato

dall'incremento di lipoproteine contenenti apoB si realizzerebbe per lo più in presenza di alterazioni di LDLR (2, 36). Il quadro che si viene dunque a configurare è quello di un inefficace RCT, con parte del colesterolo catturato in periferia dalle HDL che sarebbe veicolato ai tessuti periferici ed alla parete arteriosa ad opera delle lipoproteine contenenti apoB arricchite in colesterolo proprio dall'azione di CETP (21).

Altri studi mostrano che CETP svolgerebbe un'ulteriore azione pro-aterogena promuovendo l'arricchimento in colesterolo esterificato delle VLDL; queste lipoproteine, arricchite in esteri del colesterolo, diverrebbero un substrato meno appetibile per la lipasi lipoproteica, con conseguente aumento di permanenza ed accumulo in circolo di queste lipoproteine (2). Le VLDL ricche in colesterolo esterificato ed i loro *remnant* diverrebbero quindi substrato per la lipasi epatica, contribuendo insieme all'arricchimento delle LDL in trigliceridi mediata da CETP, alla formazione di LDL piccole e dense (sdLDL) (37). Le sdLDL rappresentano una classe di LDL particolarmente aterogena, in virtù della loro spiccata capacità di penetrare la pa-

**Tabella 1 – Azione pro-aterogena versus anti-aterogena di CETP**

Azione pro-aterogena	Azione anti-aterogena
↓ Eliminazione del colesterolo esterificato circolante attraverso l' <i>uptake</i> epatico delle HDL (via "diretta" del RCT)	↑ Eliminazione del colesterolo esterificato circolante attraverso l' <i>uptake</i> epatico delle lipoproteine contenenti apoB (via "indiretta" dell' RCT)
↑ Trasporto del colesterolo esterificato circolante ai tessuti periferici attraverso le lipoproteine contenenti apoB (soprattutto se deficit funzionale di LDLR)	↑ Attività di LCAT ed <i>uptake</i> epatico SR-B1 del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL
↑ Formazione di sdLDL	↓ Livelli circolanti di LDL ossidate
↑ Clearance renale di apoA1 delipidata	↑ Azione atero-protettiva degli estrogeni
↑ Rischio di eventi cardiovascolari in portatori di varianti polimorfiche di <i>CETP</i> che si associano a ridotti livelli circolanti di HDL colesterolo	↓ Progressione aterosclerotica con l'espressione transgenica di CETP in topi <i>SR-B1-knock-out</i>
↓ Rischio di eventi cardiovascolari in portatori di varianti polimorfiche di <i>CETP</i> che si associano a ridotta attività enzimatica di CETP	↑ <i>Uptake</i> colesterolo esterificato SR-B1 indipendente

rete arteriosa, di permanere stabilmente all'interno della stessa tramite specifiche interazioni con la matrice extra-cellulare, e di essere fortemente suscettibili allo stress ossidativo (21).

Le HDL, impoverite in esteri del colesterolo ed arricchite in trigliceridi a seguito dell'azione di scambio lipidico mediato da CETP, diventano quindi substrato della lipasi epatica con conseguente formazione di HDL piccole e dense e dissociazione di apoA1. Come detto, la apoA1 "delipidata" può essere riutilizzata come accettore di colesterolo in un nuovo ciclo di RCT, ma può anche essere rimossa irreversibilmente attraverso l'escrezione renale (38), contribuendo a diminuire il *pool* di HDL presente nel plasma e, di conseguenza, inficiando gli effetti anti-aterogeni di questa classe di lipoproteine.

Nel topo, in cui fisiologicamente sussiste la mancanza di *CETP*, l'introduzione del gene codificante per *CETP* aumenta sensibilmente la suscettibilità allo sviluppo di aterosclerosi in funzione della dieta assunta (39); tuttavia, in topi con ipertrigliceridemia la *CETP* mostrerebbe proprietà anti-aterogene (39). Nel coniglio, in cui a differenza del modello murino la *CETP* è fisiologicamente espressa, diversi studi mostrano un sostanziale incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una parallela riduzione nell'incidenza di placche aterosclerotiche a seguito dell'inibizione dell'attività di *CETP* attraverso oligonucleotidi antisense o vaccinazione (40).

Nell'uomo sono stati condotti diversi studi che hanno esaminato l'impatto di diversi polimorfismi di *CETP* sul rischio aterosclerotico e cardiovascolare.

Uno studio di associazione *genome wide* (GWAS) condotto in oltre 40.000 individui affetti da patologia coronarica aterosclerotica (CHD) ha identificato una variante di *CETP* (*rs18000775*) associata ad un mag-

gior rischio di CHD (4). Una meta-analisi di 102 studi che ha incluso 113.833 individui ha mostrato che tre varianti polimorfiche comuni nel *locus* di *CETP* sono associate ad un incremento dei livelli di HDL colesterolo, una riduzione di quelli di LDL colesterolo ed un decremento moderato nel rischio di sviluppare eventi ischemici coronarici (5). Un risultato simile è stato raggiunto in uno studio condotto in oltre 18.000 donne sane in cui sono stati identificati numerosi polimorfismi in grado di influenzare i livelli di HDL colesterolo; tra questi, un polimorfismo di *CETP* in particolare (*rs708272*) è risultato essere associato ad un aumento significativo dei livelli di HDL colesterolo e ad una riduzione consensuale del rischio di infarto miocardico del 24% (6). Una meta-analisi più recente confermerebbe il ruolo del polimorfismo *rs708272* di *CETP* nel determinare una ridotta concentrazione di *CETP*, un ridotto rischio di infarto miocardico, associato ad un incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una riduzione dei livelli di LDL colesterolo (7).

Un ulteriore supporto genetico all'azione pro-aterogena di *CETP* deriva da due recenti studi. Il primo, svolto in Danimarca, ha incluso 10.261 individui seguiti in un *follow-up* di 34 anni durante il quale sono stati registrati gli eventi cardio- o cerebro-vascolari incidenti. In questo studio due polimorfismi di *CETP* determinanti una ridotta attività dell'enzima sono stati associati ad un profilo lipidico favorevole, una maggiore longevità e ad un minor rischio di sviluppare ictus ischemico, infarto del miocardio e malattia cerebrovascolare ischemica cronica (8). Il secondo studio, una meta-analisi di 12 studi che ha coinvolto 58.649 partecipanti, ha studiato la relazione tra varianti troncate di *CETP* ed il rischio cardiovascolare, mostrando come la perdita di attività dell'enzima si



associati a livelli aumentati di HDL colesterolo e ad una riduzione del 30% del rischio di CHD (9).

### **CETP: effetti anti-aterogeni**

Il ruolo attivo di CETP nel promuovere la malattia aterosclerotica è messo in discussione da una serie di evidenze secondo cui questo enzima risulterebbe implicato in funzioni che, al contrario, deporrebbero per un suo ruolo anti-aterogeno (Tabella 2).

Se è vero che un'aumentata attività di CETP riduce i livelli di HDL colesterolo e promuove l'arricchimento in colesterolo delle lipoproteine contenenti apoB potenzialmente aterogene, è anche vero che, in presenza di un efficiente sistema recettoriale epatico di rimozione delle lipoproteine contenenti apoB, ciò potrebbe costituire una via di eliminazione del colesterolo circolante (via "indiretta" dell'RCT) tanto efficace quanto quella mediata dalle HDL (via "diretta" dell'RCT). CETP, inoltre, favorisce il trasporto inverso di colesterolo non solo grazie al suo intrinseco effetto sullo scambio bidirezionale di lipidi tra le diverse lipoproteine, ma anche promuovendo l'azione della LCAT e l'*uptake* epatico SR-B1-indipendente del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL (41, 42).

CETP svolge inoltre un ruolo coadiuvante nella funzione antiossidante delle HDL. In particolare, diversi studi hanno dimostrato che CETP è capace di ridurre i livelli circolanti di LDL ossidate, promuovendo il trasferimento di colesterolo esterificato dalle LDL ossidate alle HDL più efficacemente rispetto a quanto avviene dalle LDL native; attraverso questo meccanismo di azione, CETP favorirebbe l'eliminazione HDL-mediata di lipidi ossidati (2). Questo ruolo di CETP sembrerebbe essere assai rilevante poiché i pazienti deficitari di *CETP* mostrano livelli di LDL ossidate circolanti più elevati dei pazienti con livelli normali di CETP (43).

CETP potrebbe interagire con gli estrogeni nel meccanismo di protezione dall'aterosclerosi. Gli estrogeni, infatti, svolgono un ruolo atero-protettivo come evidenziato ad esempio dal fatto che l'efflusso HDL-mediato di colesterolo dai macrofagi viene potenziato da HDL complessate con estrogeni esterificati (44). In uno studio condotto in topi sottoposti ad ovariectomia totale, pertanto deficitari di estrogeni, è stato osservato un minore carico vascolare aterosclerotico nei topi *CETP* transgenici rispetto a quelli privi dell'enzima, supportando l'ipotesi che CETP sarebbe in grado di vicariare la funzione atero-protettiva degli estrogeni in loro as-

**Tabella 2 – Trials clinici con inibitori di CETP.**

<b>Trial</b>	<b>Pazienti</b>	<b>Durata</b>	<b>Effetti su colesterolo HDL</b>	<b>Outcomes</b>	<b>Nota bibliografica</b>
ILLUMINATE (torcetrapib)	15.067	18 mesi	↑ 72%	↑ eventi CV ↑ mortalità per tutte le cause ↑ pressione arteriosa sistolica	12
Dal-OUTCOMES (dalcetrapib)	15.871	31 mesi	↑ 25-30%	Interruzione precoce per futilità	13
ACCELERATE (evacetrapib)	12.092	26 mesi	↑ 132%	Interruzione precoce per futilità	14
REVEAL (anacetrapib)	30.449	4.1 anni	↑ 104%	↓ eventi CV	15

senza o di ampliarla in loro presenza (45). È stato anche descritto che CETP sarebbe in grado di promuovere il trasferimento di 17 $\beta$ -estradiolo esterificato dalle HDL alle LDL, conferendo così protezione contro l'ossidazione dei lipidi in quest'ultima classe lipoproteica (46).

Un possibile ruolo di CETP in senso anti-aterogeno è stato prospettato anche da uno studio condotto utilizzando topi transgenici per *CETP* umano e *knock-out* per il gene codificante apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1 (*APOBEC-1*), enzima implicato nel metabolismo lipoproteico la cui assenza determina, bloccando la sintesi di apoB48, un profilo lipoproteico più simile a quello umano (36). In questi topi l'espressione di CETP ha determinato una riduzione dei livelli di HDL colesterolo; nonostante ciò, si è osservato un aumento dell'RCT come dimostrato dalla aumentata escrezione fecale di 3H-sterolo. Nello stesso studio è stata testata anche l'espressione transgenica di *CETP* in topi *SR-B1-knock-out*; in questo caso CETP ha permesso di supplire all'assenza di *uptake* epatico di colesterolo, facilitando il trasporto di colesterolo esterificato alle lipoproteine contenenti apoB, ed evitando così la marcata progressione del processo aterosclerotico evidente invece nei topi *SR-B1-knock-out* e *CETP-knock-out* (36). Lo studio sopra citato mette in risalto il ruolo di CETP nell'RCT e trova conferma in un precedente studio nell'uomo in cui veniva prospettato che la maggior parte del colesterolo esterificato trasportato dalle HDL venisse veicolato al fegato attraverso le lipoproteine contenenti apoB (47).

In studi compiuti a fine anni '80 è stata osservata un'incrementata longevità in famiglie giapponesi portatrici di polimorfismi con perdita di funzione del gene *CETP* (10). Questi primi risultati

sono stati però smentiti da ulteriori studi compiuti a metà degli anni '90 nella popolazione giapponese di Omagari in cui sono estremamente frequenti mutazioni determinanti deficit di CETP con contestuale incremento dei valori di HDL. È infatti emerso che i soggetti di età superiore agli 80 anni presentavano una minore incidenza di deficit di CETP rispetto agli individui più giovani e che non sussisteva una correlazione diretta tra gli elevati valori di HDL nei soggetti deficitari di CETP e la aspettativa di vita (48).

### Inibizione di CETP e rischio cardiovascolare

Il ruolo di CETP nell'RCT e più in generale l'impatto negativo, seppur dibattuto, nel processo aterogenico, ha portato a considerare questa molecola non solo come possibile indicatore biologico di rischio, ma anche come un potenziale *target* terapeutico per la riduzione del rischio cardiovascolare su base aterosclerotica.

I primi tentativi terapeutici di inibizione di CETP, sperimentati in modelli di conigli in cui si rilevano alti livelli di CETP, hanno visto l'impiego di anticorpi monoclonali neutralizzanti l'enzima (49), oligonucleotidi antisense capaci di bloccare la sintesi di CETP attraverso l'inibizione del suo mRNA (50) e vaccini in grado di determinare immunità umorale nei confronti dell'enzima attraverso la generazione di anticorpi neutralizzanti l'attività plasmatica di CETP. Tutti questi approcci terapeutici hanno prodotto un incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una contestuale riduzione dell'aterosclerosi. Né gli anticorpi monoclonali né gli oligonucleotidi antisense sono risultati meritevoli di sviluppo clinico, mentre un vaccino (CETi-1) ha raggiunto la I fase di sperimentazione clinica umana, mostrando tuttavia risulta-

ti estremamente deludenti nell'indurre la produzione anticorpale e quindi influenzare l'attività di CETP ed i livelli di HDL colesterolo (51).

Nuovi margini terapeutici nell'inibizione di CETP sono stati forniti dalla sperimentazione nel modello animale di molecole in grado di legare ed inattivare CETP attraverso la formazione di complessi stabili con le HDL (52), producendo un blocco nello scambio bidirezionale di lipidi tra lipoproteine e, di conseguenza, un incremento del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL (Tabella 2).

Dopo la fase di studio animale, queste molecole sono approdate nella ricerca in ambito umano. La molecola inibitoria torcetrapib è stato oggetto del primo trial clinico randomizzato denominato ILLUMINATE, condotto su 15,067 pazienti, già in terapia con statina, randomizzati a ricevere atorvastatina più placebo o più torcetrapib. Torcetrapib, rivelatosi un potente inibitore reversibile di CETP, ha consentito di ottenere un incremento del 72% nei livelli di HDL colesterolo ed una riduzione del 25% nei livelli di LDL colesterolo. Nonostante gli effetti favorevoli sul profilo lipidico, il trial è stato interrotto precocemente, dopo soli 18 mesi, per l'eccessiva incidenza di eventi cardiovascolari e mortalità per cancro, infezioni ed eventi cardiovascolari riscontrate nel braccio randomizzato a ricevere torcetrapib rispetto a quello in placebo. Nel braccio in trattamento attivo con l'inibitore di CETP è stato registrato anche un incremento significativo nella sintesi e secrezione di aldosterone e cortisolo, ritenuti responsabili del significativo incremento della pressione arteriosa sistolica e di alterazioni elettrolitiche quali ipernatriemia ed ipokalemia (12). Analisi successive dei dati hanno attribuito questi effetti avversi a meccanismi intrinseci alla molecola specifica piuttosto che all'i-

nibizione di CETP, ipotesi consolidata dal buon profilo di sicurezza delle successive molecole sviluppate allo scopo di inibire CETP. Due analisi *post hoc* del trial ILLUMINATE hanno mostrato che, per quanto la breve durata del trial, interrotto precocemente, non consentisse un'analisi affidabile dei risultati sugli *endpoints* vascolari, torcetrapib non è risultato capace di produrre un effetto sulla regressione di placca nella popolazione globale, mentre un risultato promettente si è evidenziato nei pazienti inclusi nel quartile con livelli più alti di HDL colesterolo (53).

L'aver accertato che gli effetti avversi riscontrati con torcetrapib non fossero correlati all'inibizione di CETP ha permesso lo sviluppo di ulteriori molecole inibitorie da testare in trial clinici randomizzati in pazienti ad alto rischio già in trattamento con statine. Tra queste molecole, il dalcetrapib, inibitore irreversibile di CETP, è stato oggetto di un trial denominato dal-OUTCOMES che ha incluso 15,871 pazienti. Il dalcetrapib si è dimostrato capace di produrre un incremento del 25% dei livelli di HDL, senza mostrare alcun impatto sui livelli di LDL colesterolo. Anche questo trial non ha rilevato un effetto positivo dell'inibitore di CETP sull'*endpoint* primario, rappresentato dall'incidenza di eventi cardio- e cerebro-vascolari, per cui lo studio è stato interrotto precocemente per futilità (13). Lo stesso destino ha interessato evacetrapib, inibitore reversibile di CETP, testato in un trial clinico randomizzato condotto su 12,092 pazienti, denominato ACCELERATE (Assessment of Clinical Effects of Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition with Evacetrapib in Patients with a High Risk for Vascular Outcomes). Il trial in questione è stato interrotto precocemente poiché, al netto di un incremento dei livelli di HDL colesterolo del 132% ed una riduzione dell'LDL

colesterolo del 19%, non è stato rilevato un impatto significativo sull'*endpoint* primario (14).

Il trial che ha avuto la durata maggiore ed ha coinvolto il maggior numero di pazienti è stato il REVEAL (15). In questo trial è stato impiegato l'anacetrapib, inibitore reversibile di CETP a lunga emivita e con peculiare accumulo nel tessuto adiposo (15). Lo studio REVEAL, condotto su 30,449 pazienti seguiti per 4,1 anni, ha mostrato risultati promettenti con un buon profilo di tollerabilità del farmaco (lieve incremento dei valori pressori di circa 0,8 mmHg e lieve riduzione del filtrato glomerulare). In particolare è stata apprezzata una riduzione nel rischio di eventi cardiovascolari del 9% con una contestuale riduzione dei livelli di colesterolo non-HDL ed un incremento del 104% dei livelli di HDL colesterolo (15). È importante sottolineare che nel trial REVEAL gli effetti favorevoli cardiovascolari di anacetrapib sono stati rilevati solo negli ultimi due anni di intervento; alla luce del fatto che lo studio ACCELERATE con evacetrapib è stato interrotto prematuramente dopo appena due anni, si è ipotizzato che l'interruzione precoce dello studio potrebbe aver mascherato parte del beneficio a lungo termine del farmaco (3).

Un risultato degno di nota osservato nel braccio randomizzato a statina ed anacetrapib è la riduzione del rischio di sviluppare diabete mellito, il miglioramento dei valori glicemici e di HbA1c. Questo effetto, già apprezzato nei trials ILLUMINATE ed ACCELERATE e nelle popolazioni geneticamente deficitarie di *CETP*, sarebbe correlabile all'aumento dei livelli di apoA1 e HDL prodotto proprio dall'inibizione di CETP. Entrambe queste componenti infatti stimolano la sintesi e la secrezione di insulina nelle cellule  $\beta$  pancreatiche (54)

ed aumentano l'ingresso di glucosio nelle cellule muscolari (55). Questo dato risulta ancora più importante se si considera il possibile impatto negativo delle statine sul controllo glicemico (56).

Un dato che complica ulteriormente l'interpretazione della modulazione della CETP deriva dalla osservazione che il probucolo, agonista di CETP, pur riducendo i livelli di HDL colesterolo, si è dimostrato capace di aumentare la rimozione periferica di colesterolo (riduzione di xantomi e xantelasmi), attenuando altresì il danno vascolare aterosclerotico (57).

### Glossario

- ABCA1:** ATP binding cassette transporter A1
- ABCG:** ATP-binding cassette transporter G
- ACAT1:** Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase 1
- ACCELERATE:** Assessment of Clinical Effects of Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition with Evacetrapib in Patients with a High Risk for Vascular Outcomes
- apoA1:** apolipoproteina A1
- apoB:** apolipoproteina B
- APOBEC-1:** apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1
- apoE:** apolipoprotein E
- CETP:** cholesteryl ester transfer protein
- CHD:** coronary heart disease
- FXR:** farnesoid X receptor
- GWAS:** genome wide association study
- ILLUMINATE:** The Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events Outcomes
- LBP:** lipopolysaccharide binding protein
- LCAT:** lecithin-cholesterol acyltransferase
- LDLR:** low-density lipoprotein receptor
- LPS:** lipopolisaccaride
- LXR:** liver X receptor
- LTP:** lipid transfer protein
- RCT:** reverse cholesterol transport
- REVEAL:** Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid modification
- sdLDL:** small dense LDL
- SR-B1:** scavenger receptor class B type 1
- TICE:** transintestinal cholesterol efflux

## Conclusioni

La funzione biologica della CETP è quella di mediare lo scambio di colesterolo esterificato e trigliceridi tra le lipoproteine circolanti. In linea teorica, l'effetto netto di questa azione è anti-aterogeno. L'attività di CETP promuove infatti indirettamente l'eliminazione di colesterolo esterificato a livello del fegato tramite la via dell'LDLR e, al tempo stesso, porta alla formazione di HDL impoverite in colesterolo esterificato e perciò più attive nel favorire l'efflusso di colesterolo dai tessuti periferici. Tuttavia, il trasferimento di colesterolo esterifica-

to dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB può anche contribuire al trasporto di colesterolo ai tessuti periferici, esercitando teoricamente un effetto pro-aterogeno. Complessivamente le evidenze provenienti da studi sperimentali, clinici, genetici e di intervento non permettono di fare chiarezza sull'ambigua relazione tra CETP ed aterosclerosi. I dati in nostro possesso suggeriscono piuttosto che la funzione biologica di CETP possa essere influenzata da una serie di fattori genetici e metabolici, lasciando ipotizzare che l'azione di questo enzima sul metabolismo lipoproteico possa variare a seconda del contesto biologico.

### Questionario di auto-apprendimento

#### 1. CETP è:

- a. un ormone
- b. un recettore
- c. un enzima

#### 2. CETP promuove:

- a. l'esterificazione del colesterolo intra-cellulare
- b. lo scambio bidirezionale di colesterolo esterificato e trigliceridi tra lipoproteine circolanti
- c. la sintesi epatica di colesterolo

#### 3. Gli effetti anti-aterogeni della CETP potrebbero essere legati:

- a. al trasporto inverso del colesterolo attraverso la via "indiretta" LDLR-mediata
- b. al trasporto inverso dei trigliceridi attraverso la via "diretta" SR-B1-mediata
- c. all'aumentata clearance delle HDL

#### 4. Gli effetti pro-aterogeni della CETP potrebbero essere legati a:

- a. all'aumento dei livelli di estradiolo circolante
- b. al trasferimento del colesterolo dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB
- c. all'aumento dei livelli di HDL colesterolo

#### 5. Il trial ILLUMINATE:

- a. è stato interrotto precocemente per futilità
- b. ha valutato gli effetti dell'inibizione farmacologica di CETP con evacetrapib
- c. ha valutato l'efficacia dell'inibizione farmacologica di CETP con torcetrapib

*Risposte corrette:  
1c, 2b, 3a, 4b, 5c*



**RIASSUNTO**

Nel tentativo di chiarire gli effetti anti-aterogeni delle HDL sono stati identificati una moltitudine di proprietà protettive di questa classe di lipoproteine. Tra le tante, è noto che le HDL esercitano effetti antiossidanti, antitrombotici ed antinfiammatori e mediano il trasporto inverso del colesterolo (RCT) dalla periferia (compresa la parete arteriosa) al fegato e ad altri organi. La CETP è un enzima che, prodotto nel fegato e nel tessuto adiposo ed associato principalmente alle HDL circolanti, promuove il trasferimento di esteri di colesterolo dalle HDL alle particelle contenenti apolipoproteina B (per lo più VLDL e LDL) in cambio di trigliceridi. Esistono elementi per pensare che la CETP possa svolgere sia attività anti-aterogene che pro-aterogene. La CETP può essere vista come un enzima facilitatore del flusso di colesterolo verso il fegato, attraverso la cosiddetta via indiretta del RCT, che vede nelle lipoproteine contenenti apolipoproteina B il veicolo del colesterolo verso i recettori epatici e l'escrezione del colesterolo stesso attraverso la bile. Tuttavia, questa azione è anche direttamente responsabile della diminuzione dei livelli di HDL colesterolo, a cui notoriamente viene attribuito un significato pro-aterogeno. Seppure gli studi di randomizzazione Mendeliana sembrano attribuire alla CETP un ruolo favorente la malattia aterosclerotica, i *trial* clinici randomizzati con CETP-inibitori non hanno prodotto risultati entusiasmanti. È necessaria quindi una più attenta interpretazione dei dati ad oggi disponibili sul significato di CETP in diversi contesti clinici e sperimentali per meglio progettare presidi terapeutici che modulino l'attività di CETP e producano al contempo un impatto favorevole sul rischio cardiovascolare.

**Keywords:** *CETP; colesterolo HDL; aterosclerosi; trasporto inverso del colesterolo.*

**Bibliografia**

1. Barter PJ, Brewer HB jr, Chapman MJ, et al. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 160-167.
2. Oliveira HC, de Faria EC. Cholesteryl ester transfer protein: the controversial relation to atherosclerosis and emerging new biological roles. *IUBMB Life.* 2011; 63: 248-257.
3. Shrestha S, Wu BJ, Guiney L, et al. Cholesteryl ester transfer protein and its inhibitors. *J Lipid Res.* 2018; 59: 772-783.
4. Webb TR, Erdmann J, Stirrups KE, et al. Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 69: 823-836.
5. Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. *JAMA.* 2008; 299: 2777-2788.
6. Ridker PM, Paré G, Parker AN, et al. Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: Genomewide analysis among 18 245 initially healthy women from the Women's Genome Health Study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009; 2: 26-33.
7. Niu W, Qi Y. Circulating cholesteryl ester transfer protein and coronary heart disease: mendelian randomization meta-analysis. *Circ Cardiovasc Genet.* 2015; 8: 114-121.
8. Johannsen TH, Frikke-Schmidt R, Schou J, et al. Genetic inhibition of CETP, ischemic vascular disease and mortality, and possible adverse effects. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60: 2041-2048.
9. Nomura A, Won HH, Khera AV, et al. Protein-Truncating Variants at the Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene and Risk for Coronary Heart Disease. *Circ Res.* 2017; 121: 81-88.
10. Inazu A, Brown ML, Hesler CB, et al. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med.* 1990; 323: 1234-1238.
11. Tall AR, Rader DJ. Trials and tribulation of CETP inhibitors. *Circ Res.* 2018; 122: 106-112.
12. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med.* 2007; 357: 2109-2122.
13. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2089-2099.
14. Lincoff AM, Nicholls SJ, Riesmeyer JS, et al. Evacetrapib and Cardiovascular Outcomes in High-Risk Vascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 376: 1933-1942.
15. Bowman L, Chen F, Sammons E, et al. Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib

- through Lipid-modification (REVEAL)-A large-scale, randomized, placebo-controlled trial of the clinical effects of anacetrapib among people with established vascular disease: Trial design, recruitment, and baseline characteristics. *Am Heart J.* 2017; 187: 182-190.
16. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and Reverse Cholesterol Transport. *Circ Res.* 2019; 124: 1505-1518.
  17. Kavurma MM, Rayner KJ, Karunakaran D. The walking dead: macrophage inflammation and death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2017; 28: 91-98.
  18. Westerterp M, Murphy AJ, Wang M, et al. Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res.* 2013; 112: 1456-1465.
  19. Kennedy MA, Barrera GC, Nakamura K. ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metab.* 2005; 1: 121-31.
  20. Annema W, Tietge UJ. Role of hepatic lipase and endothelial lipase in high-density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep.* 2011; 13: 257-265.
  21. Sposito AC, Zimetti F, Barreto J, et al. Lipid trafficking in cardiovascular disease. *Adv Clin Chem.* 2019; 92: 105-140.
  22. Armitage J, Holmes MV, Preiss D. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition for Preventing Cardiovascular Events: JACC Review Topic of the Week *J Am Coll Cardiol.* 2019; 73: 477-487.
  23. Luo Y, Tall AR. Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest.* 2000; 105: 513-120.
  24. Gautier T, de Haan W, Grober J, et al. Farnesoid X receptor activation increases cholesteryl ester transfer protein expression in humans and transgenic mice. *J Lipid Res.* 2013; 54: 2195-2205.
  25. Brufau G, Groen AK, Kuipers F. Reverse cholesterol transport revisited: contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1726-1733.
  26. Yao Z, Mates JM, Cheplowitz AM, et al. Blood-Borne Lipopolysaccharide Is Rapidly Eliminated by Liver Sinusoidal Endothelial Cells via High-Density Lipoprotein. *J Immunol.* 2016; 197: 2390-2399.
  27. Topchiy E, Cirstea M, Kong HJ, et al. Lipopolysaccharide Is Cleared from the Circulation by Hepatocytes via the Low Density Lipoprotein Receptor. *PLoS ONE.* 2016; 11: e0155030.
  28. Venancio, TM, Machado RM., Castoldi A, et al. CETP lowers TLR4 expression which attenuates the inflammatory response induced by LPS and polymicrobial sepsis. *Mediators Inflamm.* 2016; 1784014.
  29. Grion CM, Cardoso LT, PerazoloTF, et al. Lipoproteins and CETP levels as risk factors for severe sepsis in hospitalized patients. *Eur J Clin Invest.* 2010; 40: 330-338.
  30. Trinder M, Genga KR, Kong HJ, et al. Cholesteryl ester transfer protein influences high-density lipoprotein levels and survival in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019; 199: 854-862.
  31. Vassiliou G, McPherson R. Role of cholesteryl ester transfer protein in selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters by adipocytes. *J Lipid Res.* 2004; 45: 1683-1693.
  32. Terán-García M, Desprésb JP, Tremblay A, et al. Effects of cholesterol ester transfer protein (CETP) gene on adiposity in response to long-term overfeeding. *Atherosclerosis.* 2008; 196: 455-460.
  33. Van der Kant R, Goldstein LSB, Ossenkoppele R. Amyloid- $\beta$ -independent regulators of tau pathology in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci.* 2020; 21: 21-35.
  34. Button EB, Robert J, Caffrey TM, et al. HDL from an Alzheimer's disease perspective. *Curr Opin Lipidol.* 2019; 30: 224-234.
  35. Sundermann EE, Wang C, Katz M, et al. Cholesteryl ester transfer protein genotype modifies the effect of apolipoprotein  $\epsilon$ 4 on memory decline in older adults. *Neurobiol Aging.* 2016; 41: 200.e7-200.e12.
  36. Tanigawa H, Billheimer JT, Tohyama J, et al. Expression of Cholesteryl Ester Transfer Protein in Mice Promotes Macrophage Reverse Cholesterol Transport. *Circulation.* 2007; 116: 1267-1273.
  37. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 3542-3556.
  38. Horowitz BS, Goldberg IJ, Merab J, et al. Increased plasma and renal clearance of an exchangeable pool of apolipoprotein A-I in subjects with low levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest.* 1993; 91: 1743-1752.
  39. Hayek T, Masucci-Magoulas L, Jiang X, et al. Decreased early atherosclerotic lesions in hypertriglyceridemic mice expressing cholesteryl ester transfer protein transgene. *J Clin Invest.* 1995; 96: 2071-2074.
  40. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, et al. A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature.* 2000; 406: 203-207.
  41. Oliveira HC, Ma L, Milne R, et al. Cholesteryl

- ester transfer protein activity enhances plasma cholesteryl ester formation. Studies in CETP transgenic mice and human genetic CETP deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1045-1052.
42. Zhou H, Li Z, Silver DL, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) expression enhances HDL cholesteryl ester liver delivery, which is independent of scavenger receptor BI, LDL receptor related protein and possibly LDL receptor. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1761: 1482-1488.
43. Chiba H, Akita H, Tsuchihashi K, et al. Quantitative and compositional changes in high density lipoprotein subclasses in patients with various genotypes of cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res.* 1997; 38: 1204-1216.
44. Badeau RM1, Metso J, Wähälä K, et al. Human macrophage cholesterol efflux potential is enhanced by HDL-associated 17beta-estradiol fatty acyl esters. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009; 116: 44-49.
45. Cazita PM, Berti JA, Aoki C, et al. Cholesteryl ester transfer protein expression attenuates atherosclerosis in ovariectomized mice. *J Lipid Res.* 2003; 44: 33-40.
46. Helisten H, Höckerstedt A, Wähälä K, et al. Accumulation of high-density lipoprotein-derived estradiol-17beta fatty acid esters in low-density lipoprotein particles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 1294-1300.
47. Schwartz CC, VandenBroek JM, Cooper PS. Lipoprotein cholesteryl ester production, transfer, and output in vivo in humans. *J Lipid Res.* 2004; 45: 1594-1607.
48. Hirano K, Yamashita S, Nakajima N, et al. Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency is extremely frequent in the Omagari area of Japan. Marked hyperalphalipoproteinemia caused by CETP gene mutation is not associated with longevity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1053-1059.
49. Whitlock ME, Swenson TL, Ramakrishnan R, et al. Monoclonal antibody inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity in the rabbit. Effects on lipoprotein composition and high density lipoprotein cholesteryl ester metabolism. *J Clin Invest.* 1989; 84: 129-137.
50. Sugano M, Makino N, Sawada S, et al. Effect of antisense oligonucleotides against cholesteryl ester transfer protein on the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Biol Chem.* 1998; 273: 5033-5036.
51. Davidson MH, Maki K, Umporowicz D, et al. The safety and immunogenicity of a CETP vaccine in healthy adults. *Atherosclerosis.* 2003; 169: 113-120.
52. Ranalletta M, Bierilo KK, Chen Y, et al. Biochemical characterization of cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *J Lipid Res.* 2010; 51: 2739-2752.
53. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Brennan DM, et al. Cholesteryl ester transfer protein inhibition, high-density lipoprotein raising, and progression of coronary atherosclerosis: insights from ILLUSTRATE (Investigation of Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound to Assess Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL Elevation). *Circulation.* 2008; 118: 2506-2514.
54. Cochran BJ, Bissoondial RJ, Hou L, et al. Apolipoprotein A-I increases insulin secretion and production from pancreatic beta cells via a G-protein-cAMP-PKA-FoxO1-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34: 2261-2267.
55. Sattar N, Preiss D, Murray HM, et al. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *Lancet.* 2010; 375: 735-742.
56. Domingo-Espín JM, Nilsson-Wolanin LO, Cushman SW, et al. Dual actions of apolipoprotein A-I on glucose-stimulated insulin secretion and insulin-independent peripheral tissue glucose uptake lead to increased heart and skeletal muscle glucose disposal. *Diabetes.* 2016. 65: 1838-1848.
57. Sawayama Y, Shimizu C, Maeda N, et al. Effects of probucol and pravastatin on common carotid atherosclerosis in patients with asymptomatic hypercholesterolemia. *Fukuoka Atherosclerosis Trial (FAST).* *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 610-616.