

FISIOPATOLOGIA

APOC-III: UN GUARDIANO NEL METABOLISMO DEI TRIGLICERIDI

ApoC-III: a gatekeeper in triglyceride metabolism

ANTONINA GIAMMANCO, ROSSELLA SPINA, ANGELO B. CEFALÙ, MAURIZIO AVERNA

Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo

SUMMARY

Apolipoprotein C-III (ApoC-III) is a widely known player in triglyceride metabolism and it has been recently recognized as a polyhedric factor which may regulate several pathways beyond lipid metabolism by influencing cardiovascular, metabolic and neurological disease risk. This review summarizes the different functions of ApoC-III and underlines the recent findings related to its multifaceted pathophysiological role. The role of ApoC-III has been implicated in HDL metabolism and in the development of atherosclerosis, inflammation and ER stress in endothelial cells. ApoC-III has been recently considered an important player in insulin resistance mechanisms, lipodystrophy, diabetic dyslipidemia and post-prandial hypertriglyceridemia (PPT). The emerging evidence of the involvement of ApoC-III in the pathogenesis of Alzheimer disease open the way to further studies if modification of ApoC-III level slows disease progression. Furthermore, ApoC-III is clearly linked to cardiovascular disease (CVD) risk and progression of coronary artery disease (CAD) as well as the calcification of aortic valve and recent clinical trials have pointed out the inhibition of ApoC-III as a promising approach to manage hypertriglyceridemia and prevent CVD. Several evidences highlight the role of ApoC-III not only in triglyceride metabolism but also in several cardio-metabolic pathways. Results from recent clinical trials underline that the inhibition of ApoC-III is a promising therapeutical strategy for the management of severe hypertriglyceridemia and in CVD prevention.

Keywords: *ApoC-III, triglyceride-rich lipoproteins (TRLs), cardiovascular disease burden, post prandial lipemia, therapeutic target.*

Introduzione

L'apolipoproteina C-III (ApoC-III) è una piccola apolipoproteina (79 residui di aminoacidi) che risiede principalmente nelle lipoproteine ricche di trigliceridi (TRL) (chilomicroni, lipoproteine a densità molto bassa – VLDL – e loro resi-

dui), lipoproteine a bassa densità (LDL) e lipoproteine ad alta densità (HDL). Le attuali conoscenze su ApoC-III suggeriscono un'influenza multiforme in diversi processi fisiopatologici tra cui il metabolismo delle TRL, l'aterosclerosi, l'infiammazione, il metabolismo del glucosio e le malattie cardiovascolari e neurologiche (1).

Indirizzo per la corrispondenza

Antonina Giammanco

antonina.giammanco@unipa.it

ApoC-III: struttura, genetica e distribuzione delle glicoforme nel plasma

Il gene *APOC3* mappa sul cromosoma 11q23 strettamente legato ai geni *APOA1* e *APOA4* in un cluster da 17 kb sul cluster di geni *APOA1/C3/A4/A5* (2). ApoC-III, descritta per la prima volta nel 1969 da Brown, è una glicoproteina sintetizzata nell'intestino e nel fegato e consiste di 99 residui amminoacidici. La forma matura è priva dei primi 20 residui amminoacidici del peptide segnale (3). Sono state caratterizzate diverse glicoforme di ApoC-III e ciascuna di esse influenza il metabolismo dei TG (4). Queste modifiche post-traduzionali di ApoC-III si distinguono per diversi livelli di residui di acido sialico (forme native, acido mono-sialico, acido bi-sialico) e ciascuna forma svolge un ruolo distintivo nel metabolismo dei lipidi. ApoC-III è una proteina altamente intercambiabile e può essere rilevata in tutti i diversi tipi di lipoproteine (VLDL, lipoproteine a densità intermedia - IDL, LDL, HDL) (4). Esiste una significativa variabilità interindividuale sulla distribuzione delle glicoforme di ApoC-III nelle lipoproteine, ma la loro proporzione tra le frazioni lipoproteiche viene mantenuta (4). Tuttavia, la presenza o l'assenza di ApoC-III in lipoproteine specifiche può contribuire alla malattia cardiovascolare aterosclerotica (CVD) (5).

Metabolismo di ApoC-III e TRL

ApoC-III è un'importante apolipoproteina coinvolta nel metabolismo dei TRL come cofattore della lipoproteina lipasi (LPL). LPL è un regolatore centrale del metabolismo lipidico e svolge un ruolo chiave nell'idrolisi delle VLDL e dei chilomicroni. ApoC-III è un noto inibitore dell'LPL e ostacola l'assorbimento epatico delle lipoproteine ricche di TG attraverso una via indipendente dalla LPL (6). La concentrazione sierica di ApoC-III differisce ampiamente tra soggetti normolipidici (~8-10 mg/dl) e sog-

BULLET POINTS

- Struttura, genetica e distribuzione dell'apolipoproteina C-III.
- Fisiologia di ApoC-III.
- ApoC-III e TRL.
- ApoC-III e HDL.
- Variazione genetica dell'ApoC-III e burden di rischio cardiovascolare.
- ApoC-III, lipemia post-prandiale e aterosclerosi.
- L'ApoC-III regola i meccanismi di insulino-resistenza e contribuisce alla disfunzione endoteliale nella dislipidemia diabetica.
- La riduzione dell'ApoC-III riduce l'infiammazione e la dimensione degli adipociti nel tessuto adiposo bianco e migliora l'espressione di geni legati alla termogenesi e alle funzioni del tessuto adiposo sottocutaneo.
- ApoC-III influenza i meccanismi di assemblaggio dell'A β e l'infiammazione neurale dell'AD.
- ApoC-III è implicata nella calcificazione della valvola aortica inducendo disfunzione mitocondriale e stress ossidativo.
- Inibizione di ApoC-III come strategia terapeutica innovativa.

getti ipertrigliceridemi (HTG) (24-30 mg/dl) (5, 7). ApoC-III inibisce la lipolisi mediata da LPL, agisce sull'assorbimento epatico mediato da ApoE delle particelle VLDL, promuove l'assemblaggio e la secrezione di VLDL (8, 9) e sopprime la clearance residua delle TRL nel fegato. La cinetica dell'ApoC-III nel plasma determina la clearance delle TRL attraverso le interazioni con l'ApoE (5, 7). Nei soggetti normotrigliceridemi, la maggior parte delle TRL viene secreta insieme all'ApoE e determina una rapida eliminazione dal flusso sanguigno attraverso meccanismi di captazione ApoE-dipendenti nel fegato. Al contrario, nei pazienti con ipertrigliceridemia, il metabolismo delle TRL cambia

da un sistema dominato da ApoE ad un sistema dominato da ApoC-III, che contribuisce a ridurre la clearance delle VLDL (5, 7). Non è ancora chiaro come ApoC-III inibisca LPL e diversi studi hanno proposto ipotesi diverse. Topi transgenici *APOC3* ipertrigliceridemici hanno dimostrato che ApoC-III possa inibire l'assorbimento epatico delle TRL mediato da ApoE e/o l'idrolisi dei TG mediata da LPL. Inoltre, topi ipotrigliceridemici *APOC3* knockout [apoC3(-/-)] incrociati con topi iperlipidemici apoE (-/-) mostrano bassi livelli di colesterolo VLDL e TG simili ai topi apoE (+/+) apoC3 (-/-), indicando che i meccanismi attraverso i quali il deficit di ApoC-III induca il suo effetto ipolipemizzante siano indipendenti dall'ApoE (9). Questi studi aiutano a comprendere come ApoC-III sia un efficace inibitore dell'idrolisi delle VLDL-TG ed evidenziano un potenziale ruolo di ApoC-III nella regolazione dell'assorbimento selettivo degli esteri del colesterolo (9). I primi studi sull'inibizione dell'ApoC-III da parte degli oligonucleotidi antisenso (ASO) hanno dimostrato in modelli animali preclinici e in uno studio clinico di fase I in soggetti sani una riduzione consistente sia dell'ApoC-III che dei TG in modo dose-dipendente (10). Inoltre, Gordts et al. hanno dimostrato che l'inibizione antisenso di ApoC-III nei topi previene la clearance delle TRL attraverso sia i recettori delle lipoproteine a bassa densità (LDLR) che i recettori della proteina 1 correlata a LDLR (LRP1), indicando quindi che ApoC-III inibisce il turnover delle TRL principalmente attraverso un meccanismo di clearance epatica (8).

Metabolismo di ApoC-III e HDL

L'ApoC-III viene trasferita tra le VLDL e due sottofrazioni principali delle HDL, HDL2 e HDL3 (11). Sebbene ApoC-III venga trasferita in modo bidirezionale tra VLDL e HDL, i dati sperimentali indicano che ApoC-III viene trasferita in modo dominante da VLDL a HDL. Nel flusso sanguigno, la dimensione delle parti-

celle di HDL3 diventa maggiore a causa dell'esterificazione del colesterolo libero superficiale da parte della lecitina-colesterolo aciltransferasi (LCAT) e dello scambio di TG e colesterolo esterificato tra VLDL e HDL da parte di CETP; l'HDL3 più grande alla fine si converte in HDL2. CETP non è necessariamente coinvolto nei trasferimenti di apolipoproteine e i livelli variabili di ApoC-II/ApoC-III osservati tra soggetti sani potrebbero essere dovuti alla variabilità del metabolismo dei TG tra gli individui (11).

Variazione genetica dell'ApoC-III, TG sierici, rischio di malattia coronarica e burden di malattie cardiovascolari

Studi epidemiologici e osservazionali hanno dimostrato che livelli plasmatici elevati di ApoC-III sono correlati a TG più elevati e ad un rischio più elevato di ASCVD e progressione di malattia coronarica (CAD) (12-14). Tuttavia, le particelle lipidiche aterogene di ApoC-III (ApoC-III-apoB, apoC-III-Lp(a) e apoC-III-apoA-I) non predicano in modo indipendente il rischio di eventi CAD come fa l'ApoC-III totale (15). La prima evidenza della relazione tra ApoC-III e rischio ASCVD proviene da uno studio di Pollin et al. (16) che hanno dimostrato che i portatori di una rara mutazione null a carico di *APOC3* hanno livelli di TG più bassi e un calcium score più basso. Questi dati sono stati successivamente confermati da due studi importanti che hanno correlato le mutazioni con perdita di funzione (LOF) di *APOC3* a una diminuzione del 40% del rischio di ASCVD (17, 18). Un'associazione simile è stata osservata tra i 2.707 partecipanti al Framingham Heart Study: una mutazione *APOC3* era associata a un livello plasmatico di ApoC-III inferiore al 46% e una riduzione di 1 mg/dl del livello di ApoC-III era associata a un rischio inferiore al 4% di incidenza di ASCVD (18, 19). Le mutazioni con perdita di funzione di *APOC3* influenza-

no anche i livelli di TG non a digiuno e il rischio di malattia cardiovascolare aterosclerotica. Infatti, le mutazioni con perdita di funzione (R19X, IVS2+1G>A e A43T) nel gene *APOC3*, identificate in 75.725 partecipanti appartenenti a due popolazioni generali, sono associate a livelli più bassi di TG circolanti e di colesterolo residuo (44% di riduzione) e con un minor carico di calcificazione coronarica, che rappresenta un marcatore surrogato di aterosclerosi (16). Nei portatori di mutazioni LOF di *APOC3* il profilo lipidico cardioprotettivo è anche caratterizzato da livelli significativamente più alti di HDL-C e livelli di colesterolo totale più bassi rispetto ai non portatori (20, 21). La scoperta che i portatori di mutazioni con perdita di funzione (loss of function - LOF) del gene *APOC3* presentano un profilo lipidico favorevole e un minor rischio di ASCVD è stata confermata in diversi studi che includevano più gruppi razziali/etnici (22). Pollin et al. (16) hanno dimostrato che circa il 5% dei soggetti Amish portatori dell'allele nullo R19X del gene *APOC3*, presentano un profilo lipidico favorevole e un basso grado di calcificazione coronarica. Il gruppo di lavoro TG e HDL dell'Exome Sequencing Project, ha identificato in una coorte di 3.734 soggetti, diverse rare varianti del gene *APOC3* associate ad un ampio effetto sui livelli plasmatici di TG (23). Il legame tra mutazioni con perdita di funzione *APOC3* e basso rischio di malattia vascolare ischemica (MVI) è stato confermato anche in una metanalisi di Wulff AB et al. (24) in cui è stato riportato che i portatori eterozigoti di mutazioni con perdita di funzione di *APOC3* mostrano livelli di colesterolo residuo più bassi e, rispettivamente, una riduzione del rischio di MVI e di cardiopatia ischemica (CI) del 37% e del 54%.

Kathiresan et al. hanno identificato quattro rare varianti di *APOC3* associate a una diminuzione del 39% dei livelli plasmatici di TG (23). Sono stati sequenziati gli esoni di 18.666 geni di 3.734 partecipanti in sette coorti basate su popolazioni di origine europea e africana che ave-

vano livelli misurabili di TG plasmatici a digiuno. Le varianti sono state poi testate per l'associazione con CHD in 110.097 individui provenienti da 15 diversi studi (25): è stato descritto che rare mutazioni LOF *APOC3* diminuiscono sia i livelli plasmatici di TG che di ApoC-III e allo stesso tempo riducono il rischio di CHD, poiché i portatori della mutazione hanno mostrato una diminuzione del 40% di malattia coronarica rispetto ai non portatori. Inoltre, in un gruppo di 75.725 danesi, i portatori di queste varianti hanno avuto una riduzione del 41% di malattia coronarica. Silbernagel et al. (26) hanno studiato sette varianti comuni di *APOC3* (rs734104, rs4520, rs5142, rs5141, rs5130, rs5128 e rs4225) associate ad alti livelli di APOC-III, TG, VLDL e TC ma non sono stati osservati aumenti dei livelli di LDL e ApoB. Tutte queste varianti non sono correlate a CAD. Recentemente, Goyal et al. (27) hanno sequenziato 396.644 individui provenienti da India, Europa, Messico e Singapore e hanno identificato due varianti, rs5128, mappata su 3'UTR di ApoC-III, e rs734104, una variante intronica. Queste due varianti erano correlate con un aumento significativo dei TG mentre non è stata osservata alcuna associazione con diabete mellito di tipo 2 (T2DM), colesterolo LDL e colesterolo totale. Sono state studiate le varianti null e rare di *APOC3* e la correlazione con i livelli di TG e CAD; alcune varianti hanno mostrato effetti diversi in pazienti diversi e, anche se la media dei livelli plasmatici di TG era significativamente più bassa tra i portatori dell'allele variante rispetto al wild type, nessuna di queste varianti ha mostrato alcuna protezione significativa contro la CAD ad eccezione della rs138326449 (27). Una recente metanalisi ha riportato l'associazione tra due polimorfismi del gene *APOC3* (SstI e T-455C) e un aumento del rischio di malattia coronarica (CHD) (28). Nel complesso, questi risultati suggeriscono fortemente che ApoC-III sia un importante target farmacologico per la gestione della dislipidemia e del rischio CV (13).

ApoC-III, lipemia post-prandiale e aterosclerosi

La riduzione del colesterolo LDL plasmatico è un obiettivo chiave per la prevenzione della malattia cardiovascolare aterosclerotica (ASCVD) (29), ma le apolipoproteine (Apos), come ApoB e ApoC, contribuiscono fortemente come fattore casuale, poiché misurano quantitativamente il numero di LDL e di VLDL e remnants (30-32). Le VLDL, rispetto alle LDL, sono arricchite di TG che aumentano significativamente negli stati di non digiuno e ancor più nella cosiddetta "lipemia postprandiale" (PPL) (33). La PPL era originariamente considerata come un aumento dei TG in seguito al consumo di pasti ad alto contenuto di grassi (20-40 grammi/grassi) che vengono consumati quotidianamente nelle società benestanti di oggi (32). È stato anche recentemente descritto che la PPL dura 6-8 ore (34), essendo quindi una situazione quotidiana e iterativa che si accumula nel tempo. Le prove sull'importanza della PPL sono in aumento poiché è stato chiaramente riconosciuto e associato a un'elevata CVD (35). I dati epidemiologici e gli approcci di randomizzazione mendeliana supportano l'elevato potenziale aterogenico delle VLDL nello stato post-prandiale (36, 37) e le prove sperimentali sottolineano gli effetti infiammatori di queste particelle che si verificano durante la PPL (38). È difficile stabilire se questi effetti siano mediati dal colesterolo di per sé (39) o siano conseguenze di altri lipidi contenuti nelle VLDL. In che misura il contenuto lipidico nelle VLDL, nelle LDL o in entrambe promuova questi meccanismi chiave di lunga durata è ancora dibattuto e ha una certa rilevanza clinica. L'ApoC-III, come riportato in precedenza, è un fattore chiave nel metabolismo dei TG (40-41); inibisce la lipoproteina lipasi (LPL) e influenza l'assorbimento delle TRL dal fegato (42). Influenza anche l'attività della lipasi epatica (HL), coinvolta nella conversione delle VLDL in lipoproteine a densità intermedia (IDL) e LDL. Studi in vivo

condotti su topi e uomo hanno riportato che i livelli plasmatici di ApoC-III sono aumentati dagli acidi grassi liberi post prandiali (PP) (43) e recentemente Guan Y et al. hanno condotto uno studio per indagare le possibili correlazioni tra ApoC-III e PPL (44): hanno scoperto che i soggetti con ipertrigliceridemia PP (PPT) hanno livelli elevati di ApoC-III sia a digiuno che in PP, che rappresenta un fattore di rischio indipendente di PPT nonché un fattore causale e può essere considerato un possibile biomarcatore della stessa PPT. In questo contesto, il controllo dei livelli plasmatici di ApoC-III potrebbe rappresentare una strategia efficace per migliorare la PPT e allo stesso tempo prevenire l'aterosclerosi e le malattie cardiovascolari (44). Inoltre, i livelli sierici di ApoC-III privi di chilomicroni sia a digiuno che in stato PP possono rappresentare un valido predittore di eventi cardiovascolari ricorrenti in pazienti con CAD stabile (45).

ApoC-III è associato all'aterosclerosi e alla malattia coronarica (CHD) per le sue proprietà proaterogeniche, l'inibizione del catabolismo e la clearance delle TLR che inducono ipertrigliceridemia (46). Le VLDL ricche di ApoC-III inducono l'adesione dei monociti alle cellule endoteliali e la successiva attivazione di meccanismi proinfiammatori che determinano la progressione dell'aterogenesi. Diversi studi genetici hanno riportato un ruolo causale di ApoC-III e del rischio di CAD, così come è stato dimostrato che le mutazioni con perdita di funzione di *APOC3* riducono il rischio di CAD (18, 47, 48). I livelli di ApoC-III [apoB, apoAI, Lp(a)] associati alle lipoproteine sono stati associati al rischio di malattia coronarica (CAD) nello studio prospettico sulla popolazione EPIC-Norfolk comprendente 25.663 soggetti (15).

In questo studio è stata valutata la distribuzione di ApoC-III tra le lipoproteine e si è scoperto che l'ApoC-III associato alle lipoproteine riflette i lipidi aterogenici ma, al contrario della misurazione dell'ApoC-III plasmatica totale, non è predittivo dell'insorgenza di CAD.

ApoC-III interagisce anche con apoE nel modulare il metabolismo delle HDL e il rischio di malattia coronarica (48) e quattro ampi studi di coorte prospettici hanno supportato l'idea che le HDL ricche di ApoC-III siano correlate con un aumento del rischio di malattia coronarica (49). Sulla base di questo risultato, l'assenza di ApoC-III è associata a un minor rischio di malattia coronarica. L'effetto di ApoC-III è dovuto principalmente al suo ruolo nella clearance di apoA-I dalle HDL, come è stato dimostrato riducendo i livelli plasmatici di ApoC-III con fibrati e statine (50). Per identificare i fattori predittivi della gravità della CAD, recentemente Braiek AB et al. hanno studiato un gruppo di biomarcatori coinvolti nell'instabilità e nella rottura della placca aterosclerotica, tra cui metalloproteinasi della matrice (MMP) e inibitori tissutali specifici (TIMP) che controllano le funzioni delle MMP (51) e hanno concluso che ApoC-III e ApoC-II sono correlati positivamente con le MMP e negativamente con i TIMP, suggerendo così un effetto sinergico di questi fattori nei disturbi cardiovascolari.

ApoC-III e infiammazione, aterosclerosi e stress del reticolo endoplasmatico (ER)

L'aterosclerosi inizia con la disfunzione endoteliale vascolare, l'attivazione e il reclutamento di monociti nella parete vascolare, la differenziazione in macrofagi, l'assorbimento del colesterolo e di altre lipoproteine e la formazione di cellule schiumose. Le particelle LDL ossidate hanno un ruolo cruciale nello sviluppo dell'aterosclerosi, ma recentemente si è scoperto che nuove particelle sono coinvolte in questo processo. Infatti, è stato scoperto che le particelle TRLs partecipano all'attivazione dei leucociti, alla disfunzione endoteliale e alla formazione di cellule schiumose (52, 53). Li H, et al. (54) hanno dimostrato che ApoC-III promuove direttamente l'espressione e l'attivazione della molecola di adesione cellulare vascola-

re-1 (VCAM-1) nelle cellule endoteliali della vena ombelicale umana (HUVEC) e induce l'adesione dei monociti con un aumento della risposta infiammatoria e contribuiscono alla progressione dell'aterosclerosi. ApoC-III mostra proprietà proinfiammatorie legate alla sua capacità di aumentare il legame dei proteoglicani e dei monociti alle cellule endoteliali in coltura attraverso l'induzione di VCAM-1: per questo motivo ha un importante potenziale nel facilitare l'aterosclerosi (18). In un recente studio Yingchun et al. (55) hanno studiato il ruolo dell'ApoC-III e dei trigliceridi nello sviluppo dell'infiammazione e dei livelli di ER stress nelle cellule endoteliali. Hanno condotto studi su cellule ApoC-III^{tg}/LDLR^{-/-} e LDLR^{-/-} e HUVEC e hanno dimostrato che ApoC-III aumenta le lesioni aterosclerotiche, promuove l'espressione di VCAM-1 e della proteina chemotattante monocitaria-1 (MCP-1) e l'espressione dello stress ossidativo e delle proteine correlate allo stress del reticolo endoplasmatico. Hanno anche studiato i TRL +/-ApoC-III che aumentavano marcatamente l'espressione proteica della proteina disolfuro isomerasi (PDI), ma non c'era alcuna differenza significativa tra i due tipi di TRL, suggerendo che lo stress del reticolo endoplasmatico nei macrofagi era indotto dalle TRL indipendentemente dall'ApoC-III.

ApoC-III: Diabete mellito e insulino-resistenza

L'ApoC-III è stata recentemente considerata un fattore importante nei meccanismi di resistenza all'insulina e nello sviluppo della dislipidemia nel diabete di tipo 2 (T2DM) (56): i livelli di ApoC-III erano collegati alla resistenza all'insulina delle isole pancreatiche e alla disfunzione delle cellule β (56) principalmente a causa della progressiva infiammazione e dell'induzione dell'apoptosi e del declino delle cellule β . La produzione di ApoC-III è stimolata dalla resistenza all'insulina, ma l'ApoC-III stes-

sa amplifica la resistenza all'insulina attraverso le cellule endoteliali (EC) (46) contribuendo a un'alterata segnalazione dell'insulina e alla disfunzione endoteliale, agendo come un fattore chiave della dislipidemia diabetica (46). La disfunzione endoteliale è caratterizzata da una diminuzione dell'ossido nitrico (NO) e delle sue proprietà vasodilatatrici e antiaterogene. L'insulina induce la NO sintasi endoteliale (eNOS) nelle cellule endoteliali (EC) e determina la produzione di NO; La resistenza all'insulina, di conseguenza, causa la disfunzione delle EC. ApoC-III attiva la Proteina Chinasi C Beta (PKC β) che inibisce la segnalazione dell'insulina nelle EC attraverso la via eNOS e la produzione di NO nelle EC, determinando così la disfunzione endoteliale (51). Il ruolo pro-diabetogenico di ApoC-III è stato dimostrato anche da Qamar et al. che hanno trovato una correlazione positiva tra i livelli di ApoC-III e il glucosio a digiuno/emoglobina glicosilata A1C (HbA1c) nei pazienti con T2DM (57). Inoltre, i livelli plasmatici di ApoC-III erano correlati all'ipertrigliceridemia e all'aumento della calcificazione dell'arteria coronaria nei soggetti dislipidemicici con T2DM (57). L'espressione del gene *APOC3* è soppressa dall'insulina attraverso il fattore di trascrizione nucleare Foxo1 che regola l'attività del promotore di *APOC3* (58); a differenza dell'insulina, l'espressione del gene *APOC3* è indotta dal glucosio attraverso un meccanismo ancora sconosciuto, contribuendo così alla dislipidemia diabetica (59). Recentemente, Sigfrids et al. hanno effettuato uno studio includendo 3966 soggetti con diabete di tipo 1 per valutare un ruolo predittivo dell'ApoC-III nella malattia renale diabetica (DKD), negli eventi cardiaci avversi maggiori (MACE) e nella mortalità: è stata riportata una correlazione positiva tra ApoC-III ed eventi cardiovascolari nel diabete di tipo 1 che presenta albuminuria, prevedendo così la progressione e la mortalità della DKD (60). Un'importante correlazione tra l'aumentata sensibilità all'insulina e la soppressione sia dell'ApoC-III che dei TG

plasmatici è stata segnalata anche attraverso gli effetti dell'inibitore antisenso *APOC3* - volanesorsen (ISIS 304801) - sui livelli di TG e sulla resistenza all'insulina in pazienti con diabete di tipo 2 (61).

ApoC-III: obesità e lipodistrofia

In accordo con studi *in vivo* condotti sia su topi transgenici con over-espressione di ApoC-III che su topi knock-out privi di ApoC-III, è stato dimostrato che questa apolipoproteina regola i meccanismi metabolici alla base dell'obesità indotta dalla dieta nel fegato e nel tessuto adiposo bruno (62-64). In particolare, la diminuzione dell'ApoC-III migliora la sensibilità all'insulina e i livelli di trigliceridi (65). In uno studio molto recente focalizzato sul tessuto adiposo bianco (WAT) sottocutaneo (SAT) e viscerale (VAT), Recio-Lopez et al. hanno scoperto che la riduzione dell'ApoC-III determina miglioramenti dello stato metabolico, diminuisce l'infiammazione e la dimensione degli adipociti nel WAT e migliora l'espressione di geni legati alla termogenesi e alle funzioni del SAT (66).

Le lipodistrofie parziali familiari (FPLD) sono malattie genetiche rare caratterizzate da marcata perdita di grasso sottocutaneo dalle estremità con perdita variabile di grasso dal viso e dal tronco. I pazienti con FPLD sviluppano anomalie metaboliche tra cui ipertrigliceridemia, resistenza all'insulina e diabete mellito, che sono difficili da gestire con le terapie convenzionali inclusi fibrati, statine e insulina (67). L'ipertrigliceridemia è una complicanza della lipodistrofia dovuta principalmente all'effetto del deficit di leptina e della lipogenesi *de novo* (68, 69): come nel caso dello stato insulino-resistente, è secondaria a un'inefficiente capacità di immagazzinare l'energia in eccesso, a un elevato turnover degli acidi grassi liberi, a secrezione di VLDL e diminuzione dell'attività di LPL (68). La sostituzione della leptina nei pazienti con lipodistrofia riduce i TG sierici (68). ApoC-III gioca un ruolo nella patogenesi

dell'insulino-resistenza e dell'ipertrigliceridemia osservata nella lipodistrofia: i livelli di ApoC-III sono più alti nei pazienti con lipodistrofia rispetto ai controlli sovrappeso/obesi indipendentemente dal deficit e dalla sostituzione di leptina (68). L'ApoC-III e altri modulatori di LPL, come ANGPTL3 e ANGPTL8, diminuiscono significativamente dopo la somministrazione di meterleptina, una metionil leptina umana ricombinante, portando così ad un abbassamento dei trigliceridi e ad una riduzione del grasso epatico (70). Recenti studi clinici supportano il ruolo dell'inibizione di *APOC3* nella lipodistrofia. Due studi, NCT02639286 (dati non ancora pubblicati) e NCT02527343 (71) hanno supportato il ruolo dell'oligonucleotide antisense anti-*APOC3* in pazienti con lipodistrofia parziale. La sostituzione della leptina può diminuire l'ApoC-III riducendo i livelli plasmatici di glucosio a digiuno, come è stato dimostrato nei topi ob/ob carenti di leptina (68), ma negli esseri umani non è sufficiente per gestire le complicanze metaboliche della lipodistrofia, in particolare l'ipertrigliceridemia (70). Per questo motivo gli inibitori di ApoC-III potrebbero rappresentare in futuro una valida opzione terapeutica per il trattamento della lipodistrofia.

ApoC-III e malattia di Alzheimer

ApoC-III così come gli altri membri della famiglia dell'apolipoproteina C (ApoC-I e ApoC-II) interagiscono con ApoE e influenzano la fisiopatologia della malattia di Alzheimer (AD) (72). L'AD è una malattia neurodegenerativa progressiva che provoca atrofia cerebrale irreversibile e accumulo di placca senile e amiloide β , che rappresenta la causa più comune di demenza (72). Recentemente Chan et al. hanno dimostrato che le particelle HDL ricche di ApoC-III sono associate all'AD (73). ApoC-III co-localizza con il ganglioside GM1 insieme ad un aumento dei livelli di fattore di necrosi tumorale α (TNF- α), pertanto è stato ipotizzato

un potenziale ruolo pro-infiammatorio di ApoC-III coinvolto nella distruzione della barriera ematoencefalica e della deposizione dell'amiloide β in pazienti con AD (73). Un'altra scoperta interessante è la correlazione tra le isoforme plasmatiche di ApoC-III e il liquido cerebrospinale (CSF): il rilascio di ApoC-III avviene attraverso le HDL contenenti apoA-I, che rendono possibile questo trasporto grazie alla loro tipica forma discoidale (72). Poiché i livelli di ApoC-III sono aumentati nel liquido cerebrospinale dei pazienti affetti da AD, è stato ipotizzato che ApoC-III sulle TRL possa promuovere l'efflusso di amiloide β dal cervello (73, 74), influenzando così i meccanismi di assemblaggio dell'A β e l'infiammazione neurale dell'AD.

ApoC-III e calcificazione della valvola aortica

ApoC-III è stata implicata nella calcificazione della valvola aortica (75) attraverso un meccanismo che induce disfunzione mitocondriale e stress ossidativo delle cellule interstiziali valvolari umane primarie (VIC) (76). Queste cellule sotto specifici fattori scatenanti, cioè l'infiammazione, sono soggette a differenziarsi in miofibroblasti favorendo così la formazione di tessuto fibroso e la calcificazione determinando malattia calcifica della valvola aortica (CAVD) e la stenosi aortica (AS) (76). L'ApoC-III è aumentata sia nel tessuto calcifico CAVD umano che attorno ai noduli calcifici: questa scoperta ha fatto sorgere l'idea che sia direttamente coinvolta nella promozione della calcificazione AV oltre alle sue altre funzioni metaboliche. La via IL-6/BMP-2 è coinvolta nel processo di calcificazione del VIC come è stato dimostrato da studi *in vitro* (75). Inoltre, ApoC-III potenzia le vie di segnalazione proinfiammatorie (77, 78) determinando la calcificazione e l'attivazione della cascata di fattori CAVD-specifici (79).

La *Figura 1* rappresenta schematicamente il ruolo e le funzioni di ApoC-III riportati in questa review.

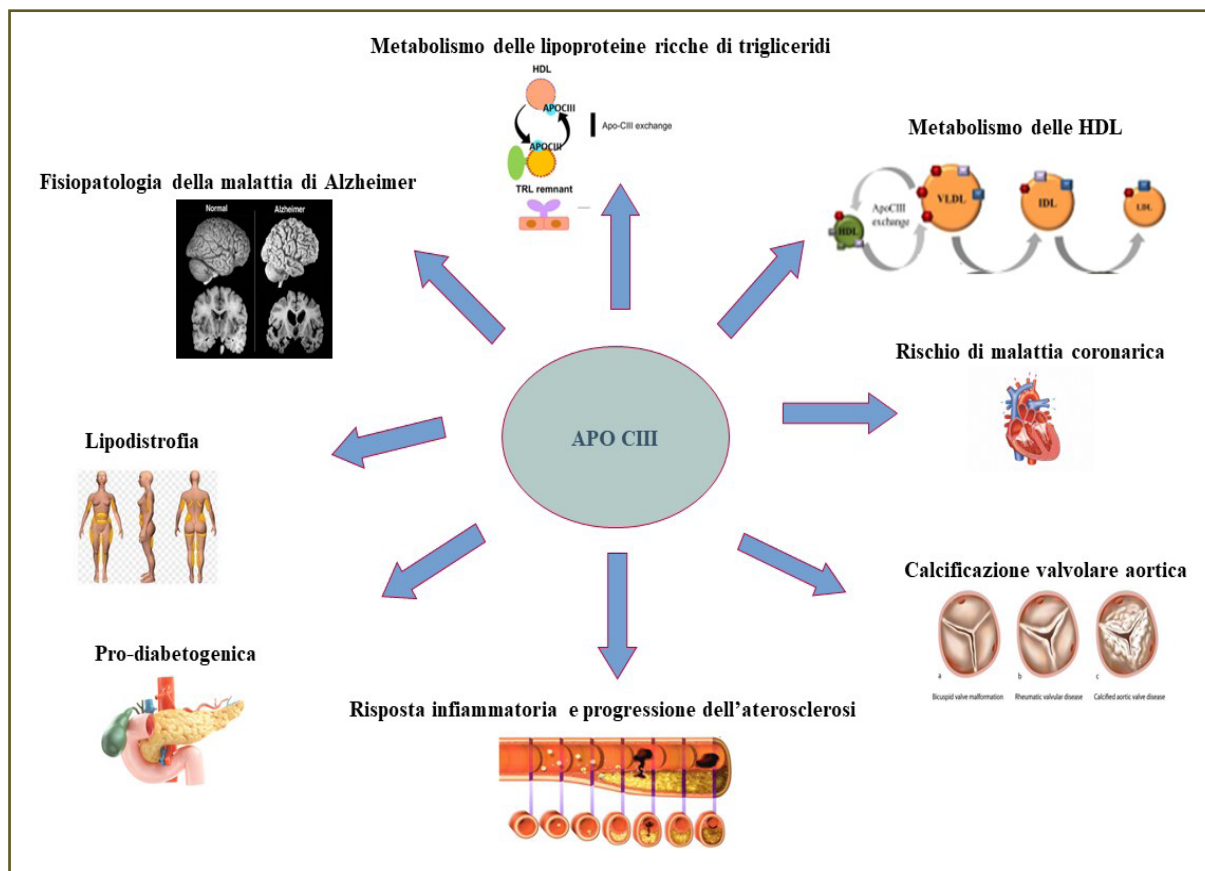


Figura I - Rappresentazione schematica dei ruoli e delle funzioni di ApoC-III discussi in questa review (figura modificata da Curr Atheroscler Rep. 2023 Mar; 25 (3): 67-76). ApoC-III previene la clearance delle TRL attraverso sia i recettori delle lipoproteine a bassa densità (LDLR) che le proteine correlate a LDLR; Trasferimento bidirezionale tra VLDL e HDL in modo indipendente dal CETP; inibisce la LPL e ostacola la captazione epatica delle lipoproteine ricche di TG; migliora le vie di segnalazione proinfiammatorie (IL-6/BMP-2); promuove l'espressione di VCAM-1 e MCP-1 e l'espressione delle proteine legate allo stress ossidativo e allo stress del reticolo endoplasmatico; è correlata al diabete mellito, all'insulino-resistenza, all'obesità, amplifica la resistenza all'insulina attraverso le cellule endoteliali; è coinvolta nello sviluppo dell'ipertrigliceridemia osservata nella lipodistrofia; aumenta i livelli del fattore di necrosi tumorale α (TNF- α) e può favorire l'efflusso di amiloide β dal cervello.

Inibizione di ApoC-III come nuova strategia terapeutica

L'inibizione di ApoC-III da parte di oligonucleotidi antisenso (ASO) rappresenta finora una strategia unica ed efficace per ridurre i livelli di ApoC-III (80). Gli anticorpi monoclonali anti-ApoC-III, STT505 e STT5058, sembrano diminuire i livelli di ApoC-III e determinare la

clearance delle TRL nei modelli animali (81). Gaudet et al. hanno riportato in primo luogo l'inibizione antisenso con volanesorsen somministrato per via sottocutanea in pazienti ipertrigliceridemicici dimostrando un'importante diminuzione dei TG (da -40 a -79,6%) (82); anche su 66 pazienti con sindrome chilomicronemica familiare (FCS) trattati per 52 settimane con questo ASO, la riduzione dei TG è stata significativa

(-77%) così come l'abbassamento dei livelli di ApoC-III (-84%). Tuttavia, nonostante volanesorsen abbia determinato eventi avversi tra cui grave trombocitopenia, è stato approvato e autorizzato dall'Agenzia medica europea (EMA) che ha valutato favorevolmente il rapporto rischio/beneficio (83). Una recente metanalisi degli studi clinici di fase 2 e fase 3 su volanesorsen ha sottolineato l'efficacia di volanesorsen nel ridurre VLDL-C (-73%), TG (-68%), ApoC-III (-74%) e aumentare HDL-C (+40%) e LDL-C (+47%) (83). Recentemente, un nuovo ASO anti-ApoC-III è in fase di studio (fase 1/2°): si tratta di un ASO modificato, APOCIII-LRx coniugato con N-acetil galattosamina (GalNac3) che

prende di mira il recettore dell'asialoglicoproteina (ASGPR) negli epatociti e sembra efficace nella riduzione di TG e ApoC-III senza indurre alcun evento avverso significativo come bassa conta piastrinica, sintomi simil-influenzali, reazioni cutanee nel sito di iniezione (84, 85). Sono necessari ulteriori studi per valutare l'efficacia e la sicurezza dell'inibizione di ApoC-III sia nella riduzione dei TG che nella prevenzione delle CVD. Ad oggi, lo studio in corso ISIS 678354 (AKCEA-APOCIII-LRx) in pazienti con ipertrigliceridemia e malattia cardiovascolare accertata potrebbe svelare e chiarire questo punto [*ClinicalTrials.gov/ct2/show/NCT03385239*].

Questionario di autoapprendimento

1) L'ApoC-III è una piccola apolipoproteina che risiede principalmente in:

- a) Lipoproteine ricche di trigliceridi (TRL)
- b) Chilomicroni, nelle VLDL e loro residui
- c) LDL e HDL
- d) a + b + c

2) ApoC-III induce l'infiammazione ed aumenta le dimensioni degli adipociti nel tessuto adiposo bianco:

- a) Vero
- b) Falso

3) L'inibizione con oligonucleotide antisense anti-APOC3 - volanesorsen - somministrato per via sottocutanea in pazienti ipertrigliceridemici ha dimostrato una riduzione della trigliceridemia pari a:

- a) -10%
- b) Range variabile da -40 a -79,6%
- c) -35%
- d) Range variabile da -25 a -55%

4) ApoC-III è associata all'aterosclerosi e alla malattia coronarica per:

- a) Proprietà proaterogeniche
- b) Inibizione del catabolismo e della clearance delle TLR
- c) a + b
- d) Nessuna delle precedenti

5) ApoC-III è implicata nella calcificazione della valvola aortica attraverso meccanismi di:

- a) Disfunzione mitocondriale e stress ossidativo delle cellule interstiziali valvolari
- b) Stress del reticolo endoplasmatico
- c) Nessuna delle precedenti
- d) Attivazione di segnali pro-infiammatori

*Risposte corrette:
1) d; 2) a; 3) b; 4) c; 5) a + d*

RIASSUNTO

L'apolipoproteina C-III (ApoC-III) è un attore ampiamente noto nel metabolismo dei trigliceridi ed è stato recentemente riconosciuto come fattore poliedrico che può regolare diversi processi, oltre al metabolismo lipidico, modulando il rischio di malattie cardiovascolari, metaboliche e neurologiche. Questa review riassume le diverse funzioni di ApoC-III e sottolinea le recenti scoperte relative al suo multiforme ruolo fisiopatologico. Il ruolo di ApoC-III è stato associato al metabolismo delle HDL e allo sviluppo di aterosclerosi, infiammazione e stress del reticolo endoplasmico (ER stress) nelle cellule endoteliali. ApoC-III è stato recentemente considerato un fattore importante nei meccanismi di resistenza all'insulina, nella lipodistrofia, nella dislipidemia diabetica e nell'ipertrigliceridemia post-prandiale (TPP). Le prove emergenti del coinvolgimento di ApoC-III nella patogenesi della malattia di Alzheimer aprono la strada a ulteriori studi su come una modifica dei livelli di ApoC-III possa rallentare la progressione della malattia. Inoltre, ApoC-III è chiaramente collegata al rischio di malattie cardiovascolari (CVD) e alla progressione della malattia coronarica (CAD), nonché alla calcificazione della valvola aortica e recenti studi clinici hanno indicato l'inibizione di ApoC-III come un approccio promettente per gestire l'ipertrigliceridemia e prevenire le malattie cardiovascolari. Numerose evidenze suggeriscono il ruolo dell'ApoC-III non solo nel metabolismo dei trigliceridi ma anche in diversi meccanismi cardio-metabolici. I risultati di recenti studi clinici sottolineano che l'inibizione di ApoC-III sia una strategia terapeutica promettente per la gestione dell'ipertrigliceridemia grave e nella prevenzione delle malattie cardiovascolari.

Parole chiave: *ApoC-III, lipoproteine ricche di trigliceridi (TRL), burden delle malattie cardiovascolari, lipemia post prandiale, target terapeutico.*

Bibliografia

- D'Erasmo L, Di Costanzo A, Gallo A, Bruckert E, Arca M. ApoCIII: a multifaceted protein in cardiometabolic disease. *Metabolism*. 2020; 113: 154395.
- Lai CQ, Parnell LD, Ordovas JM, Karathanasis SK. The APOA1/C3/A4/A5 gene cluster, lipid metabolism and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol*. 2005; 16 (2): 153-166.
- Bolanos-Garcia VM, Miguel RN. On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipid-binding proteins. *Prog Biophys Mol Biol*. 2003; 83 (1): 47-68.
- Rodríguez M, Rehues P, Iranzo V, Mora J, Balsells C, Guardiola M, et al. Distribution of seven ApoC-III glycoforms in plasma, VLDL, IDL, LDL and HDL of healthy subjects. *J Proteomics*. 2022; 251: 104398.
- Mendivil CO, Zheng C, Furtado J, Lel J, Sacks FM. Metabolism of very-low-density lipoprotein and low-density lipoprotein containing apolipoprotein C-III and not other small apolipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2010; 30: 239-245.
- Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841: 919-933.
- Mendoza S, Trenchevska O, King SM, Nelson RW, Nedelkov D, Krauss RM, Hussein N Yassine. Changes in low-density lipoprotein size phenotypes associate with changes in apolipoprotein C-III glycoforms after dietary interventions. *J Clin Lipidol*. 2017; 11 (1): 224-233.e2.
- Gordts PLS, Nock R, Son NH, Ramms B, Lew I, Gonzales JC, et al. ApoC-III inhibits clearance of triglyceride-rich lipoproteins through LDL family receptors. *J Clin Invest*. 2016; 126 (8): 2855-2866.
- Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, van der Boom H, van Berkel TJ, Havekes LM. Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res*. 2001; 42 (10): 1578-1585.
- Graham MJ, Lee RG, Bell TA, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res*. 2013; 112 (11): 1479-1490.
- Yamazaki A, Ohkawa R, Yamagata Y, Horiuchi Y, Lai SJ, Kameda T, et al. Apolipoprotein C-II and C-III preferably transfer to both high-density lipoprotein (HDL)2 and the larger HDL3 from very low-density lipoprotein (VLDL). *Biol Chem*. 2021; 402 (4): 439-449.
- Koren E, Corder C, Mueller G, Centurion H, Hallum G, Fesmire J, et al. Triglyceride enriched lipoprotein particles correlate with the severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1996; 122 (1): 105-115.
- Taskinen MR, Boren J. Why Is Apolipoprotein CIII Emerging as a Novel Therapeutic Target to Reduce the Burden of Cardiovascular Disease? *Curr Atheroscler Rep*. 2016; 18: 59.
- Reeskamp LF, Tromp TR, Stroes ESG. The next generation of triglyceride-lowering drugs: will reducing apolipoprotein C-III or angiopoietin like protein 3 reduce cardiovascular disease? *Curr Opin Lipidol*. 2020; 31: 140-146.
- van Capelleveen JC, Lee SR, Verbeek R, Kastelein JJP, Wareham NJ, Stroes ESG, et al. Relationship of lipo-

- protein-associated apolipoprotein C-III with lipid variables and coronary artery disease risk: The EPIC-Norfolk prospective population study. *J Clin Lipidol.* 2018; 12 (6): 1493-1501.
16. Pollin TI, Damcott CM, Shen H, Ott SH, Shelton J, Horenstein RB, et al. A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science.* 2008; 322: 1702-1705.
 17. Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Loss-of-Function Mutations in APOC3 and Risk of Ischemic Vascular Disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 32-41.
 18. HDL Working Group of the Exome Sequencing Project NHL Crosby J, Peloso GM, Auer PL, et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 22-31.
 19. Geach T. Genetics. APOC3 mutations lower CVD risk. *Nat Rev Cardiol.* 2014; 11 (9): 496.
 20. Crawford DC, Dumitrescu L, Goodloe R, Brown-Gentry K, Boston J, McClellan Jr B, et al. Rare Variant APOC3 R19X Is Associated with Cardio-Protective Profiles in a Diverse Population-Based Survey as Part of the Epidemiologic Architecture for Genes Linked to Environment (EAGLE) Study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014; 7 (6): 848-853.
 21. Reyes-Soffer G, Sztalryd C, Horenstein RB, Holleran S, Matveyenko A, Thomas T, et al. Effects of APOC3 Heterozygous Deficiency on Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019; 39 (1): 63-72.
 22. Natarajan P, Kohli P, Baber U, Nguyen KDH, Sartori S, Reilly DF, et al. Association of APOC3 Loss-of-Function Mutations With Plasma Lipids and Subclinical Atherosclerosis: The Multi-Ethnic BioImage Study. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 66: 2053-2055.
 23. The TG and HDL Working Group of the Exome Sequencing Project, National Heart, Lung, and Blood Institute. Loss-of-Function Mutations in APOC3, Triglycerides, and Coronary Disease. *N Engl J Med.* 2014; 371 (1): 22-31.
 24. Wulff AB, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. APOC3 Loss-of-Function Mutations, Remnant Cholesterol, Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Cardiovascular Risk Mediation- and Meta-Analyses of 137 895 Individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018; 38: 660-668.
 25. Cohen JC, Stender S, Hobbs HH. APOC3, Coronary Disease, and Complexities of Mendelian Randomization. *Cell Metab.* 2014; 20 (3): 387-389.
 26. Silbernagel G, Scharnagl H, Kleber ME, Hoffmann MM, Delgado G, Stojakovic T, et al. Common APOC3 variants are associated with circulating ApoC-III and VLDL cholesterol but not with total apolipoprotein B and coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2020; 311: 84-90.
 27. Goyal S, Tanigawa Y, Zhang W, Chai JF, Almeida M, Sim X, et al. APOC3 genetic variation, serum triglycerides, and risk of coronary artery disease in Asian Indians, Europeans, and other ethnic groups. *Lipids Health Dis.* 2021; 20 (1): 113.
 28. Zhang JZ, Xie X, Ma YT, Zheng YY, Yang YN, Li XM, et al. Association between Apolipoprotein C-III Gene Polymorphisms and Coronary Heart Disease: A Meta-analysis. *Aging Dis.* 2016; 7 (1): 36-44.
 29. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41 (1): 111-188.
 30. Tada H, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Kawashiri MA. Remnant lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta.* 2019; 490: 1-5.
 31. Aguilar Salinas CA, Chapman MJ. Remnant lipoproteins: are they equal to or more atherogenic than LDL? *Review Curr Opin Lipidol.* 2020; 31 (3): 132-139.
 32. Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim. Acta.* 2011; 412: 1306-1318.
 33. Masuda D, Yamashita S. Postprandial Hyperlipidemia and Remnant Lipoproteins. *J Atheroscler Thromb.* 2017; 24: 95-109.
 34. Berry SE, Valdes AM, Drew DA, Asnicar F, Mazidi M, Wolf J, et al. Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. *Nat Med.* 2020; 26 (6): 964-973.
 35. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin.* 2014; 30: 1489-503.
 36. Ginsberg HN, Packard CJ, Chapman MJ, Borén J, Aguilar-Salinas CA, Averna M, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and their remnants: metabolic insights, role in atherosclerotic cardiovascular disease, and emerging therapeutic strategies-a consensus statement from the European Atherosclerosis Society. *European Heart Journal.* 2021; 42: 4791-4806.
 37. Nordestgaard BG. New Insights From Epidemiology, Genetics, and Biology. *Circ. Res.* 2016; 118: 547-563.
 38. Norata GD, Grigore L, Raselli S, Redaelli L, Hamsten A, Maggi F, et al. Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: molecular mechanisms and gene expression studies. *Atherosclerosis.* 2007; 193 (2): 321-327.
 39. Christ A, Günther P, Lauterbach MAR, Duewelling P, Biswas D, Pelka K, et al. Western Diet Triggers NLRP3-Dependent Innate Immune Reprogramming. *Cell.* 2018; 172 (1-2): 162-175.e14.
 40. Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med.* 2014; 317: 2200-2206.

41. Sacks FM. The crucial roles of apolipoproteins E and C-III in apoB lipoprotein metabolism in normolipidemia and hypertriglyceridemia. *Curr Opin Lipidol*. 2015; 26: 56-63.
42. Zheng C, Khoo C, Furtado J, Sacks FM. Apolipoprotein C-III and the metabolic basis for hypertriglyceridemia and the dense low-density lipoprotein phenotype. *Circulation*. 2010; 121: 1722-1734.
43. Pavlic M, Valéro R, Duez H, Xiao C, Szeto L, Patterson BW, et al. Triglyceride-rich lipoprotein-associated apolipoprotein C-III production is stimulated by plasma free fatty acids in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; 28: 1660-1665.
44. Guan Y, Hou X, Tian P, Ren L, Tang Y, Song A, et al. Elevated Levels of Apolipoprotein CIII Increase the Risk of Postprandial Hypertriglyceridemia. *Front. Endocrinol*. 2021; 12: 646185.
45. Katzmann JL, Werner CM, Stojakovic T, März W, Scharnagl H, Laufs U. Apolipoprotein CIII predicts cardiovascular events in patients with coronary artery disease: a prospective observational study. *Lipids in Health and Disease*. 2020; 19: 116.
46. Kawakami A, Yoshida M. Apolipoprotein CIII links dyslipidemia with atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2009; 16: 6-11.
47. Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Loss-of-function mutations in APOC3 and risk of ischemic vascular disease. *N Engl J Med*. 2014; 371 (1): 32-41.
48. Morton AM, Koch M, Mendivil CO, Furtado JD, Tjønneland A, Overvad K, et al. Apolipoproteins E and CIII interact to regulate HDL metabolism and coronary heart disease risk. *JCI Insight*. 2018; 3 (4): e98045.
49. Jensen MK, Aroner SA, Mukamal KJ, Furtado JD, Post WS, Tsai MY, et al. High-Density Lipoprotein Subspecies Defined by Presence of Apolipoprotein C-III and Incident Coronary Heart Disease in Four Cohorts. *Circulation*. 2018; 137 (13): 1364-1373.
50. Watt GF, Barrett PHR, Ji J, Serone AP, Chan DK, Croft KD, et al. Differential regulation of lipoprotein kinetics by atorvastatin and fenofibrate in subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2003; 52 (3): 803-811.
51. Braiek AB, Chahed H, Dumont F, Abdelhak F, Hichem D, Gamra H, et al. Identification of biomarker panels as predictors of severity in coronary artery disease. *J Cell Mol Med*. 2021; 25: 1518-1530.
52. Kawakami A, Aikawa M, Libby P, Alcaide P, Lusinskas FW, Sacks FM. Apolipoprotein CIII in apolipoprotein B lipoproteins enhances the adhesion of human monocytic cells to endothelial cells. *Circulation*. 2006; 113 (5): 691-700.
53. Kawakami A, Aikawa M, Alcaide P, Lusinskas FW, Libby P, Sacks FM. Apolipoprotein CIII induces expression of vascular cell adhesion molecule-1 in vascular endothelial cells and increases adhesion of monocytic cells. *Circulation*. 2006; 114 (7): 681-687.
54. Li H, Han Y, Qi R, Wang Y, Zhang X, Yu M, et al. Aggravated restenosis and atherogenesis in ApoCIII transgenic mice but lack of protection in ApoCIII knockouts: the effect of authentic triglyceride-rich lipoproteins with and without ApoCIII. *Cardiovasc Res*. 2015; 107 (4): 579-589.
55. Yingchun H, Yahong M, Jiangping W, Xiaokui H, Xiaohong H. Increased inflammation, endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in endothelial and macrophage cells exacerbate atherosclerosis in ApoCIII transgenic mice. *Lipids Health Dis*. 2018; 17 (1): 220.
56. Juntti-Berggren L, Ali Y, Berggren PO. The pancreatic β -cell in deadly encounter with apolipoprotein CIII. *Cell Cycle*. 2015; 14 (17): 2715-2716.
57. Qamar A., Khetarpal SA, Khera AV, Qasim A, Rader DJ, Reilly MP. Plasma apolipoprotein C-III levels, triglycerides, and coronary artery calcification in type 2 diabetics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015; 35: 1880-1888.
58. Altomonte J, Cong L, Harbaran S, Richter A, Xu J, Meseck M, et al. Foxo1 mediates insulin action on apoC-III and triglyceride metabolism. *J Clin Investig*. 2004; 114: 1493-1503.
59. Caron S, Verrijken A, Mertens I, Samanez CH, Mautino G, Haas JT, et al. Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 513-519.
60. Sigfrids FJ, Stechemesser L, Dahlström EH, Forsblom CM, Harjutsalo V, Weitgasser R, et al. *J Intern Med*. 2022; 291: 338-349.
61. Digenio A, Dunbar RL, Alexander VJ, Hompesch M, Morrow L, Lee RG, et al. Antisense-Mediated Lowering of Plasma Apolipoprotein C-III by Volanesorsen Improves Dyslipidemia and Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016; 39 (8): 1408-1415.
62. Raposo HF, Paiva AA, Kato LS, de Oliveira HCF. Apolipoprotein CIII overexpression exacerbates diet-induced obesity due to adipose tissue higher exogenous lipid uptake and retention and lower lipolysis rates. *Nutr. Metab*. 2015; 12: 61.
63. Paiva AA, Raposo HF, Wanschel ACBA, Nardelli TR, Oliveira HCF. Apolipoprotein CIII Overexpression-Induced Hypertriglyceridemia Increases Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Association with Inflammation and Cell Death. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2017; 1838679.
64. Valladolid-Acebes I, Åvall K, Recio-López P, Moruzzi N, Bryzgalova G, Björnholm M, et al. Lowering apolipoprotein CIII protects against high-fat diet-induced metabolic derangements. *Sci. Adv*. 2021; 7 (11): eabc2931.
65. Boren J, Packard CJ, Taskinen MR. The Roles of ApoC-III on the Metabolism of Triglyceride-Rich Lipoproteins in Humans. *Front. Endocrinol*. 2020; 11: 474.

66. Recio-Lopez P, Valladolid-Acebes I, Berggren PO, Juntti-Berggren I. Apolipoprotein CIII Reduction Protects White Adipose Tissues against Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance in Mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23: 62.
67. Garg A. Lipodystrophies: genetic and acquired body fat disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96 (11): 3313-3325.
68. Kassai A, Muniyappa R, Levenson AE, Walter MF, Abel BS, Ring M, et al. Effect of Leptin Administration on Circulating Apolipoprotein CIII levels in Patients With Lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101 (4): 1790-1797.
69. Semple RK, Sleight A, Murgatroyd PR, Adams CA, Bluck L, Jackson S, et al. Postreceptor insulin resistance contributes to human dyslipidemia and hepatic steatosis. *J Clin Invest.* 2009; 119 (2): 315-322.
70. Lightbourne M, Wolska A, Abel BS, Rother KI, Walter M, Kushchayeva Y, et al. Apolipoprotein CIII and Angiopietin-like Protein 8 are Elevated in Lipodystrophy and Decrease after Metreleptin. *Endocr Soc.* 2020; 5 (2): bvaa191.
71. O'Dea L, Tami J, Alexander V, Watts L, Hurh E, Hubbard B, et al. Oral Efficacy and safety of volanesorsen for the treatment of metabolic complications in patients with familial partial lipodystrophy: results of the BROADEN study. *Endocrine Abstracts.* 2020; 70 OC3.7.
72. Hu Y, Meuret C, Martinez A, Yassine HN, Nedelkov D. Distinct patterns of apolipoprotein C-I, C-II, and C-III isoforms are associated with markers of Alzheimer's disease. *J. Lipid Res.* 2021; 62: 100014.
73. Chan HC, Ke LY, Lu HT, Weng SF, Chan HC, Law SH, et al. An Increased Plasma Level of ApoCIII-Rich Electronegative High-Density Lipoprotein May Contribute to Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease. *Biomedicine.* 2020; 8: 542.
74. Shih YH, Tsai KJ, Lee CW, Shiesh SC, Chen WT, Pai MC, et al. Apolipoprotein C-III is an amyloid- β -binding protein and an early marker for Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis.* 2014; 41: 855-865.
75. Schlotter F, de Freitas RCC, Rogers MA, Blaser MC, Wu PJ, Higashi H, et al. ApoC-III is a novel inducer of calcification in human aortic valves. *J. Biol. Chem.* 2021; 296: 100193.
76. Aikawa E, Libby P. A Rock and a Hard Place: Chiseling Away at the Multiple Mechanisms of Aortic Stenosis. *Circulation.* 2017; 135: 1951-1955.
77. Kohan AB. Apolipoprotein C-III: a potent modulator of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Curr.Opin.Endocrinol.Diabetes Obes.* 2015; 22: 119-125.
78. Zheng C, Azcutia V, Aikawa E, Figueiredo JL, Croce K, Sonoki H, et al. Statins suppress apolipoprotein CIII-induced vascular endothelial cell activation and monocyte adhesion. *Eur.Heart J.* 2013; 34: 615-624.
79. Song JS, Wang RS, Leopold JA, Loscalzo J. Network determinants of cardiovascular calcification and repositioned drug treatments. *FASEB J.* 2020; 34: 11087-11100.
80. Taskinen MR, Packard CJ, Boren J. Emerging Evidence that ApoC-III Inhibitors Provide Novel Options to Reduce the Residual CVD. *Curr Atheroscler Rep.* 2019; 21 (8): 27.
81. Khetarpal SA, Zeng X, Millar JS, Vitali C, Somasundara AVH, Zanoni P, et al. A human APOC3 missense variant and monoclonal antibody accelerate apoC-III clearance and lower triglyceride-rich lipoprotein levels. *Nat Med.* 2017; 23 (9): 1086-94.
82. Gaudet D., Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, et al. Antisense Inhibition of Apolipoprotein C-III in Patients with Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med.* 2015; 373 (5): 438-447.
83. Witztum JL, Gaudet D, Freedman SD, Alexander VJ, Digenio A, Williams KR, et al. Volanesorsen and Triglyceride Levels in Familial Chylomicronemia Syndrome. *N Engl J Med.* 2019; 381 (6): 531-542.
84. Alexander VJ, Xia S, Hurh E, Hughes SG, O'Dea L, Geary RS, et al. N-acetyl galactosamine-conjugated antisense drug to APOC3 mRNA, triglycerides and atherogenic lipoprotein levels. *Eur Heart J.* 2019; 40 (33): 2785-2796.
85. Qamar A, Libby P, Bhatt DL. Targeting RNA to lower triglycerides: long strides from short molecules. *Eur Heart J.* 2019; 40 (33): 2797-2800.