

Colesterolo: assorbimento e vie di eliminazione

Ruolo dei trasportatori ABCA1, ABCG5 ed ABCG8

SEBASTIANO CALANDRA, PATRIZIA TARUGI, SERENA ALTILIA,
JUNIA Y. PENACHIONI

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia

INTRODUZIONE

Il colesterolo rappresenta una molecola di vitale importanza nella biologia della cellula e nella fisiologia umana.

Esso costituisce un componente strutturale fondamentale delle membrane cellulari ed il precursore di importanti molecole quali i sali biliari e gli ormoni steroidei.

Inoltre questo lipide ubiquitario riveste un ruolo fondamentale nello sviluppo e nel funzionamento del sistema nervoso e dell'osso, nella trasduzione del segnale, nello sviluppo delle cellule germinali e nella fecondazione così come nel differenziamento.

Nel corso dell'evoluzione si sono selezionati più di 100 geni che controllano la sintesi, il trasporto ed il metabolismo del colesterolo.

Le cellule di gran parte degli organi e dei tessuti sono in grado di far fronte al fabbisogno di colesterolo per la formazione delle membrane attraverso la sintesi endogena avendo essi tutto il corredo di enzimi necessari per produrre

questo composto a partire da precursori semplici come l'acetato.

Tuttavia, molti tipi cellulari hanno acquisito, in aggiunta alla sintesi endogena, un sofisticato meccanismo per internalizzare ed utilizzare il colesterolo contenuto in specifiche lipoproteine plasmatiche.

Nelle cellule che producono ormoni steroidei, ad esempio, la internalizzazione di colesterolo-lipoproteico costituisce un processo fisiologico che fornisce a queste cellule una sufficiente riserva di colesterolo da impiegare per la sintesi di ormoni steroidei particolarmente a fronte di una richiesta "acuta" di tali ormoni da parte dell'organismo.

Nel caso degli epatociti la internalizzazione del colesterolo, trasportato da alcune classi di lipoproteine, consente da un lato di fornire all'organismo colesterolo di origine alimentare (attraverso la cattura di lipoproteine di origine intestinale), dall'altro di eliminare colesterolo in eccesso proveniente dai tessuti periferici (trasportato delle lipoproteine ad alta densità), attraverso la sua escrezione diretta nella bile o la sua trasformazione in acidi biliari. In questa breve rassegna sono prese in esame alcune recenti acquisizioni che riguardano il ruolo di una nuova famiglia di trasportatori di membrana nell'assorbimento intestinale del colesterolo e nella sua eliminazione da parte del fegato.

Indirizzo per la corrispondenza

Prof. Sebastiano Calandra
Dipartimento di Scienze Biomediche
Università di Modena e Reggio Emilia
Via Campi 287 - 41100 Modena
E mail: sebcald@unimo.it

ASSORBIMENTO INTESTINALE DEL COLESTEROLO

L'assorbimento intestinale del colesterolo, così come degli altri lipidi della dieta, è un fenomeno complesso che coinvolge numerosi fattori (enzimi, proteine di trasporto, sali biliari, ecc.).

Esso può essere distinto in tre fasi principali:

- 1) fase endoluminale;
- 2) fase di assunzione (uptake) e escrezione da parte degli enterociti;
- 3) fase intracellulare.

La fase endoluminale comporta la idrolisi degli esteri del colesterolo per intervento di lipasi pancreatiche e la successiva incorporazione del colesterolo libero nelle micelle contenenti acidi biliari, fosfolipidi, acidi grassi e monogliceridi.

La solubilizzazione del colesterolo è essenziale per consentire la sua diffusione attraverso la barriera acquosa (unstirred water layer) presente sulla superficie della mucosa intestinale. La disaggregazione delle micelle avviene a livello della superficie degli enterociti; ad essa segue la assunzione del colesterolo, di provenienza biliare e alimentare da parte di queste cellule.

Fattori importanti che possono condizionare l'assorbimento del colesterolo nella fase endoluminale sono la disponibilità di lipasi pancreatiche, il tipo di acidi grassi e monogliceridi, la disponibilità di sali biliari e fosfolipidi, e la presenza di steroli e stanoli vegetali; questi ultimi, se presenti in elevata quantità, possono interferire con la solubilizzazione del colesterolo nelle micelle, riducendone quindi l'assorbimento (vedi oltre).

La seconda fase dell'assorbimento consiste nel passaggio del colesterolo attraverso la membrana dell'enterocita. Il meccanismo molecolare di questo processo è ancora indefinito. Non è noto se questa assunzione sia un processo di diffusione passiva o un processo facilitato da qualche trasportatore. Tentativi di isolare uno specifico trasportatore hanno portato a risultati contrastanti.

È stata ipotizzata l'esistenza di una "permeasi" che faciliterebbe l'assunzione del colesterolo e di altri steroli vegetali. Il nuovo farmaco ezetimibe, un potente inibitore dell'as-

sorbimento del colesterolo, potrebbe agire bloccando la funzione di questa elusiva permeasi di membrana.

È opinione condivisa che l'assorbimento del colesterolo intestinale sia incompleto, e che quindi l'efficienza con cui l'intestino assorbe colesterolo rappresenti un importante fattore nella omeostasi del colesterolo nell'intero organismo.

I dati disponibili in letteratura al riguardo non sono sempre univoci, probabilmente in relazione al fatto che le metodologie impiegate per misurare l'assorbimento intestinale sono differenti, così come variano l'età, il sesso e il background genetico dei soggetti esaminati, la quantità di colesterolo nella dieta standard e la quantità e tipo di acidi grassi presenti nella dieta stessa.

Le percentuali di assorbimento riportate in letteratura variano dal 28% al 60% a seconda degli studi, con un valore medio intorno al 45%-55%. Questa percentuale varia considerevolmente fra individuo ed individuo (30%-80%) mentre sembra essere costante nello stesso individuo.

La grande limitazione di questo tipo di studi è rappresentata dal fatto che la percentuale di colesterolo assorbita si riferisce esclusivamente alla quota di colesterolo introdotto con la dieta; questo valore percentuale non fornisce informazioni riguardo alla quantità totale di colesterolo assorbito in quanto non tiene conto della quota di colesterolo escreto con la bile che viene riassorbito dall'epitelio intestinale. La secrezione biliare del colesterolo nell'intestino infatti può raggiungere i 1.000 mg/die mentre l'assunzione con la dieta è in genere inferiore a questo valore (es. 250-500 mg/die).

Quindi si può verificare una cospicua diluizione del colesterolo della dieta con il colesterolo biliare con effetti importanti sul calcolo della quantità assoluta di colesterolo assorbito dall'intestino ed incorporato nelle lipoproteine di origine intestinale (chilomicroni e HDL).

È opportuno sottolineare il fatto che il contenuto di colesterolo ed il tipo di acidi grassi presenti nella dieta standard possono influenzare l'assorbimento di colesterolo. Uno studio Finlandese ha suggerito che la percentuale di colesterolo alimentare assorbito dall'intestino è in relazione al genotipo apo E, in quanto la

■ ■ ■ È essenziale
la solubilizzazione
del colesterolo
per consentire
la sua diffusione
attraverso la barriera
acquosa presente
sulla superficie della
mucosa intestinale

percentuale di assorbimento è inferiore nei soggetti con allele E2 rispetto a quelli con allele E3 ed E4. Tuttavia questa differenza si annulla se il contenuto di colesterolo nella dieta si riduce da 500 mg/die a 250/die. Anche il polimorfismo della apolipoproteina

AIV (sostituzione glutamina-istidina in posizione 360) sembra influenzare l'assorbimento del colesterolo in soggetti a cui sia stata somministrata una dieta ad alto contenuto di colesterolo ed acidi grassi poli-insaturi. I soggetti con genotipo A-IV 1/1 avrebbero un assorbimento del colesterolo pari al 57% a fronte di un 47% nei soggetti con genotipo A-IV1/2.

In conclusione una stima accurata dell'assorbimento del colesterolo della dieta presenta limiti oggettivi in assenza di un approccio sperimentale standardizzato e condiviso che tenga conto del tipo di dieta (contenuto in colesterolo, steroli vegetali, ed acidi grassi,) età e sesso dei soggetti, background genetico (es. genotipo apo E/apo A-IV o di altri geni candidati potenzialmente coinvolti nel regolare l'assorbimento del colesterolo).

Tuttavia, qualunque sia l'approccio sperimentale impiegato, gli studi sono concordi nel dimostrare una correlazione positiva tra la percentuale di assorbimento di colesterolo della

dieta con i livelli plasmatici di colesterolo totale e colesterolo LDL. L'assorbimento degli steroli vegetali presenti nella dieta è, in condizioni normali, molto limitato (5-10%).

In studi eseguiti su volontari sani l'assorbimento di sitosterolo, stigmasterolo

e campesterolo è risultato essere 4,2%, 4,8% e 9,6 % rispettivamente. Tutti questi steroli vegetali sono eliminati rapidamente per via biliare e quindi la loro concentrazione plasmatica è trascurabile (<1-2 mg/dl).

Dato il suo limitato assorbimento, il sitosterolo è stato impiegato come "standard interno" per gli studi di assorbimento del colesterolo della dieta.

Poiché dal punto di vista chimico, vi è una stretta somiglianza fra colesterolo e i 3 più importanti steroli vegetali, è stato da tempo postulato che gli enterociti possiedano un sofisticato meccanismo di selezione stereo-specifico capace di discriminare le minime differenze strutturali esistenti fra questi steroli.

Questo meccanismo alla base della "discriminazione" fra molecole molto simili è probabilmente in relazione all'intervento di alcuni trasportatori di membrana coinvolti nella riescrezione degli steroli a livello dell'enterocita (Figura 1).

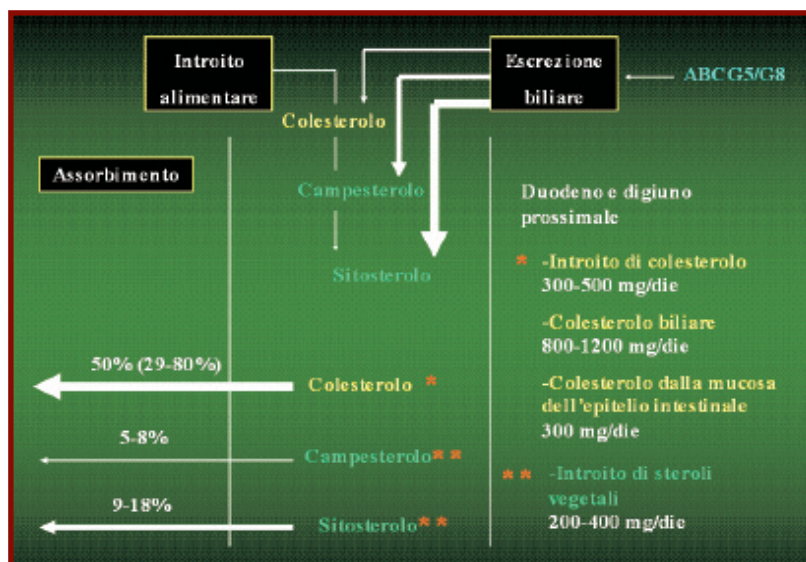


FIGURA 1
Percentuali di assorbimento intestinale del colesterolo e degli steroli vegetali

MECCANISMI MOLECOLARI COINVOLTI NELL'ASSORBIMENTO DEL COLESTEROLO E DEGLI STEROLI VEGETALI

La fase intracellulare dell'assorbimento del colesterolo comprende diversi eventi che si verificano nell'interno dell'enterocita e che portano alla costituzione di molteplici "pools" intracellulari di colesterolo che hanno un destino diverso. Una parte del colesterolo viene esterificato dall'enzima ACAT-2, ed, insieme ad una quota di colesterolo non esterificato, viene incorporato nei chilomicroni. Una parte del colesterolo viene trasferito a specifiche regioni della membrana plasmatica (regione apicale e regione baso-laterale) e destinato ad essere eliminato in vario modo dall'enterocita. Infine un'altra parte del colesterolo è utilizzata dalla cellula per la costituzione di componenti delle membrane cellulari e subcellulari.

I meccanismi molecolari coinvolti nell'assorbimento intestinale del colesterolo e degli steroli vegetali, che seguono all'ingresso del colesterolo nell'enterocita, sono stati in parte chiariti da studi recenti, che hanno portato alla identificazione di una famiglia di trasportatori di membrana che controllano la "ri-escrezione" del colesterolo assunto da queste cellule. Questi trasportatori appartengono alla grande superfamiglia dei trasportatori ABC, proteine di membrana che condividono una architettura molecolare comune consistente in uno o due domini di legame con l'ATP (ATP-Binding Cassette, ABC) ed uno o due domini contenenti da 6 a 12 segmenti trans-membrana, rispettivamente. I trasportatori ABC possono essere organizzati secondo due modalità:

- 1) come trasportatori completi (full transporters) con due domini di legame con l'ATP e due domini transmembrana;
- 2) come trasportatori incompleti (half transporters) con un solo dominio di legame con l'ATP ed un solo dominio transmembrana. In molti casi due trasportatori incompleti funzionano come om- o eterodimeri. I trasportatori della superfamiglia ABC sono coinvolti nel trasporto di una ampia varietà di molecole di varia natura chimica inclusi farmaci e xenobiotici.

Verrà qui esaminata l'evidenza sperimentale e fisiopatologia a sostegno del ruolo di que-

ste molecole nell'eliminazione del colesterolo dall'enterocita.

1) Il Trasportatore ABCA1

Il trasportatore ABCA1 è stato identificato nel 1999, quando si è scoperto che mutazioni del gene codificante questa proteina sono la causa della malattia di Tangier, una rara malattia recessiva caratterizzata da grave deficit di HDL nel plasma. Il trasportatore ABCA1 è un trasportatore ABC di tipo completo (full transporter), che è presente nella membrana plasmatica di quasi tutti i tipi cellulari, ove funziona facilitando l'efflusso di fosfolipidi e colesterolo dallo strato esterno della membrana plasmatica ad un accettore extracellulare rappresentato dall'apolipoproteina A-I povera in lipidi. Il difetto completo di questo trasportatore si traduce in un accumulo intracellulare di colesterolo e nella mancata lipidizzazione dell'apo A-I, a cui consegue un accelerato catabolismo di questa apolipoproteina che è causa dei ridotti livelli plasmatici di HDL. La espressione del gene ABCA1 è sotto il controllo del contenuto intracellulare di colesterolo e/o di derivati ossidati del colesterolo (ossi-steroli). Questi composti rappresentano ligandi/attivatori per un fattore di trascrizione denominato LXR (Liver X- Receptor) il quale, formando un dimero con un altro fattore di trascrizione denominato RXR (recettore per l'acido retinico), attiva la trascrizione del gene ABCA1. L'efflusso di colesterolo mediato da ABCA1 consente alla cellula di facilitare l'eliminazione di colesterolo e di mantenerne inalterata la concentrazione intracellulare (Figura 2).

Una prima indicazione che il trasportatore ABCA1 fosse coinvolto nel controllo dell'assorbimento intestinale del colesterolo emerse dalla osservazione che topi con inattivazione del gene ABCA1 (ABCA1^{-/-}) avevano un aumentato assorbimento di colesterolo rispetto agli animali di controllo (ABCA1^{+/+}). Successivamente fu osservato che topi normali sottoposti a trattamento con agonisti dei due fattori trascrizionali LXR e RXR, (al fine di aumentare la espressione di ABCA1), presentavano una riduzione consistente dell'assorbimento intestinale del colesterolo. Queste due osservazioni hanno suggerito l'ipotesi che, in condizioni fisiologiche, il trasportatore ABCA1 presente negli enterociti riducesse in qualche

■ ■ ■ *Il trasportatore ABCA1 è stato identificato nel 1999, quando si è scoperto che mutazioni del gene codificante questa proteina sono la causa della malattia di Tangier*

modo l'assorbimento del colesterolo, facilitando la sua ri-escrezione nel lume intestinale prima della sua incorporazione in chilomicroni e secrezione nella linfa mesenterica. Questa ipotesi tuttavia non sembrava suffragata dai risultati ottenuti in individui con difetto completo di ABCA1 (malattia di Tangier), nei quali l'assorbimento intestinale del colesterolo si presenta simile al normale. Inoltre topi transgenici che iper-esprimono in modo specifico l'ABCA1 umana non manifestano alcuna riduzione dell'assorbimento intestinale del colesterolo.

Queste osservazioni in vivo hanno stimolato una serie di studi in vitro nei quali sono state impiegate cellule in linea continua di origine intestinale (es. cellule Caco-2). Tali cellule, esposte ad agonisti di di LXR/RXR capaci di aumentare l'espressione di ABCA1, presentano un aumentato efflusso di colesterolo dalla membrana baso-laterale ad un accettore extracellulare di colesterolo come l'apo A-I povera in lipidi. Anche se questi risultati indicano un coinvolgimento dell'ABCA1 nella formazione di lipoproteine di origine intestinale, non dimostrano in modo conclusivo che il trasportatore ABCA1 controlli la quantità di colesterolo della dieta presente nell'enterocita e disponibile ad essere incorporato nei chilomicroni. Gli

studi recenti infatti sembrano suggerire un diverso ruolo di ABCA1 a livello dell'enterocita, quale quello di facilitare la incorporazione di colesterolo in HDL di origine intestinale, come illustrato di seguito.

2) I Trasportatori ABCG5 ed ABCG8

I due trasportatori ABCG5 ed ABCG8 appartengono alla superfamiglia dei trasportatori ABC. Essi differiscono da ABCA1 in quanto sono trasportatori incompleti (half transporters). Essi sono membri della sotto-famiglia G dei trasportatori ABC in quanto contengono un singolo dominio ATP magnesio-dipendente all'estremità NH2 terminale e sei segmenti transmembrana. I geni codificanti ABCG5 ed ABCG8 si trovano sul cromosoma 2 (2 p21) a brevissima distanza l'uno dall'altro. Mutazioni in ABCG5 o ABCG8 sono la causa di una rara malattia recessiva denominata sitosterolemia, caratterizzata da un abnorme assorbimento intestinale di steroli vegetali e di colesterolo che determina un aumento dei livelli plasmatici di questi steroli e predispone ad aterosclerosi prematura. Analoghe alterazioni metaboliche si verificano in topi con inattivazione dei geni ABCG5 ed ABCG8 (G5/G8-/-). In condizioni fisiologiche i due trasportatori ABCG5 e ABCG8 agiscono di concerto formando un

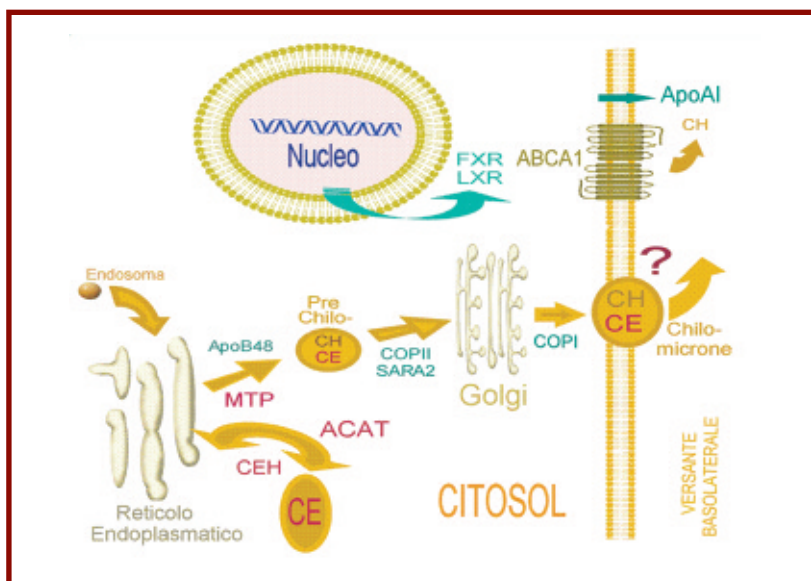


FIGURA 2
Assorbimento intestinale – fase intracellulare

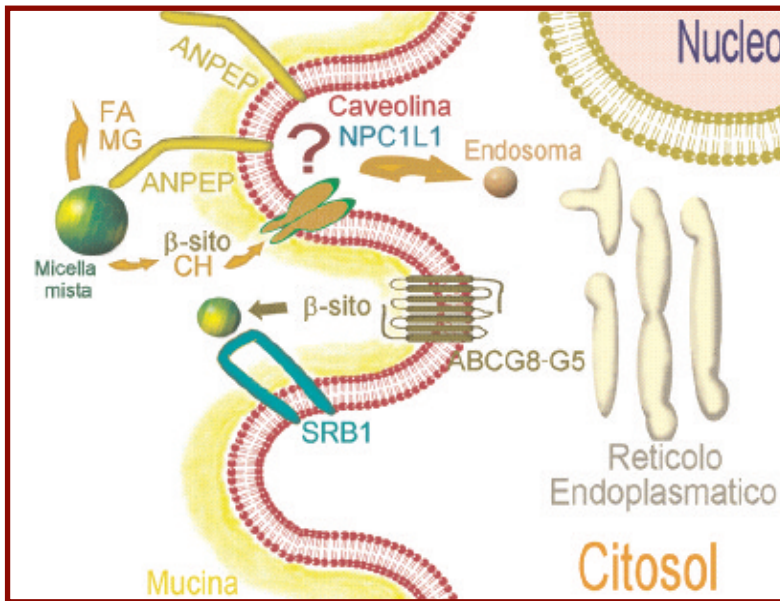


FIGURA 3
Assorbimento intestinale
– Interazione con la
membrana cellulare

eterodimero che si localizza sulla porzione apicale (prospiciente il lume intestinale) della membrana degli enterociti (Figura 3). L'espressione dei geni ABCG5 ed ABCG8 è controllata dal contenuto intracellulare di colesterolo, attraverso l'attivazione del fattore trascrizionale LXR, come avviene nel caso del gene ABCA1. Nei topi, la somministrazione di una dieta ad elevato contenuto di colesterolo aumenta l'espressione di ABCG5 e ABCG8. Ciò è dovuto alla attivazione del fattore trascrizionale LXR; infatti agonisti di LXR aumentano notevolmente l'mRNA per questi due trasportatori, analogamente a quanto avviene per l'ABCA1. Questo effetto non si osserva negli animali privi del fattore trascrizionale LXR (LXR^{-/-}) (20). D'altro canto, la somministrazione di agonisti del fattore trascrizionale LXR in topi con inattivazione dei geni ABCG5 ed ABCG8 (G5G8^{-/-}) non determina la riduzione dell'assorbimento intestinale del colesterolo osservata negli animali di controllo.

Infine topi transgenici che iper-esprimono i due trasportatori ABCG5 ed ABCG8 presentano una ridotta percentuale di assorbimento del colesterolo ed un sostanziale incremento della escrezione di steroli neutri nelle feci.

Sulla base di queste osservazioni si è formulata l'ipotesi che i suddetti trasportatori costituiscano un sistema di "difesa" nei confronti del colesterolo e degli steroli vegetali pre-

senti negli alimenti, riducendone l'assorbimento e quindi l'ingresso nell'organismo. In questo contesto il fattore trascrizionale LXR avrebbe la funzione di sensore di colesterolo. Quando i livelli di colesterolo nell'enterocita aumentano (come si può verificare a seguito di sovraccarico alimentare di colesterolo), il fattore trascrizionale LXR viene attivato da derivati ossidati del colesterolo (ossi-steroli). Ciò induce la espressione dei due geni ABCG5 ed ABCG8 e quindi una maggiore disponibilità dei due trasportatori. La successiva formazione dell'eterodimero permette il trasporto di colesterolo intracellulare sulla parte apicale della membrana degli enterociti. Il colesterolo presente in questa regione della membrana, verrebbe quindi "pompat" verso il lume intestinale e sottratto al pool intracellulare di colesterolo destinato ad essere incorporato nei chilomicroni.

Quale è dunque il ruolo del trasportatore ABCA1 negli enterociti, originariamente ritenuto coinvolto nel controllo dell'assorbimento del colesterolo della dieta? Il ruolo di ABCA1 è stato chiarito da esperimenti in vitro ed in vivo. Nelle cellule intestinali Caco-2 il trasportatore ABCA1 è localizzato prevalentemente nella porzione baso-laterale della membrana plasmatica e, solo in misura trascurabile, nella porzione apicale della membrana stessa. Questa specifica localizzazione induce a ritenere

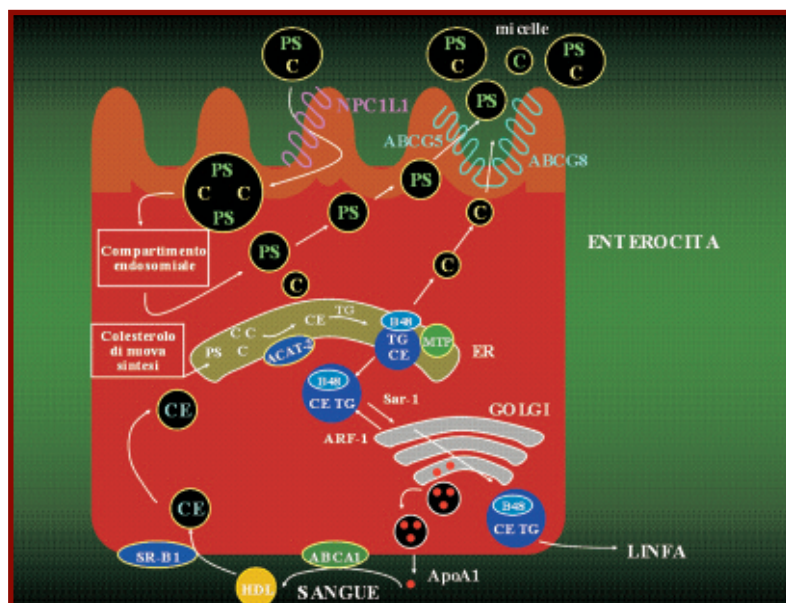


FIGURA 4
Ruolo dei trasportatori ABCA1, ABCG5 e ABCG8

che ABCA1 svolge un ruolo non tanto nel favorire la ri-escrezione di colesterolo dall'enterocita al lume intestinale, bensì nel facilitare l'efflusso di colesterolo dall'enterocita verso la linfa mesenterica/sistema venoso portale promuovendo in tal modo la formazione di lipoproteine intestinali della classe delle HDL. Una prova convincente di questa ipotesi è stata ottenuta in un modello animale nel quale vi è un difetto completo di ABCA1 dovuto ad una mutazione spontanea del rispettivo gene. È stato isolato un ceppo di polli (Wisconsin hypoalpha mutant, WHAM) nel quale, la pressoché totale assenza di HDL plasmatiche, è il risultato di una mutazione puntiforme del gene ABCA1 (sostituzione dell'acido glutammico in posizione 89 con una lisina, E89K). In questo modello spontaneo di deficit di ABCA1 (con manifestazioni fenotipiche simili a quelle che si verificano nella malattia di Tangier nell'uomo) si è osservato che:

- 1) l'assorbimento intestinale del colesterolo non è aumentato, come ci si aspetterebbe se il trasportatore ABCA1 facilitasse la ri-escrezione nel lume intestinale del colesterolo assorbito dall'enterocita;
- 2) la formazione di HDL da parte dell'enterocita e la loro immissione nel sangue portale è pressoché abolita, a differenza di quanto avviene negli animali normali;
- 3) la somministrazione di agonisti del fattore

trascrizionale LXR determina un aumento dell'assorbimento del colesterolo, che in assenza di attività funzionale del trasportatore di ABCA1, deve essere ascrivito alla attivazione di altri trasportatori quali, ad es. ABCG5 ed ABCG8.

Al momento quindi il controllo dell'assorbimento del colesterolo da parte dell'enterocita sembra sia da ascrivere ai due trasportatori ABCG5 ed ABCG8 che si trovano sulla porzione apicale della membrana plasmatica di questa cellula. Il trasportatore ABCA1, localizzato prevalentemente nella porzione basolaterale della membrana plasmatica controllerebbe l'efflusso di colesterolo dalla membrana stessa all'apo A-I povera in lipidi e contribuirebbe quindi alla formazione del pool plasmatico delle HDL di origine intestinale (Figura 4).

SECREZIONE BILIARE DI COLESTEROLO E RUOLO DEI TRASPORTATORI ABCG5 ED ABCG8

I trasportatori ABCG5/ABCG8 sono presenti a livello del polo biliare dell'epatocita e sono coinvolti anche nella escrezione biliare del colesterolo, una delle principali vie attraverso le quali il colesterolo endogeno è eliminato dal-

■ ■ ■ *A questi animali
la somministrazione
di una dieta ad elevato
contenuto di colesterolo
determina un aumento
di circa 2 volte del
colesterolo plasmatico*

l'organismo. La prima evidenza che i due trasportatori fossero coinvolti in questo processo proviene dallo studio della secrezione biliare nei soggetti affetti da sitosterolemia. In questi individui il completo difetto funzionale di ABCG5 o ABCG8, si traduce non solo in un aumento dell'assorbimento di colesterolo e steroli vegetali da parte dell'intestino, ma anche in un difetto di escrezione degli stessi dall'epatocita con la bile. Lo studio di topi in cui i due geni sono stati inattivati (G5G8^{-/-}) ha dimostrato che in questi animali la secrezione di colesterolo nella bile è circa 1/10 rispetto a quella osservata negli animali di controllo. La somministrazione a questi animali di una dieta ad elevato contenuto di colesterolo determina un aumento di circa 2 volte del colesterolo plasmatico e di 18 volte della concentrazione epatica di colesterolo. Inoltre in questi stessi animali (G5G8^{-/-}) la somministrazione di un potente agonista di LXR non ha alcun effetto sulla secrezione biliare di colesterolo. Da tutto ciò si evince che i due trasportatori ABCG5 ed ABCG8 non solo controllano l'assorbimento intestinale di steroli vegetali e di colesterolo (vedi sopra), ma rivestono un ruolo rilevante nell'evitare un eccessivo accumulo intra-epatico del colesterolo della dieta assorbito in eccesso a livello intestinale. Un'ulteriore conferma di questo ruolo proviene da altre due osservazioni sperimentali. La aumentata espressione di ABCG5/ABCG8 in animali normali, indotta nel fegato da parte di derivati del colesterolo (ossi-steroli ligandi fisiologici di LXR/RXR ovvero altri ligandi agonisti di LXR) determina un aumento della secrezione biliare di colesterolo (così come una riduzione dell'assorbimento intestinale dello stesso, come riportato più sopra). In topi transgenici che iperesprimono i due trasportatori ABCG5/ABCG8 si osserva un incremento di circa 5 volte della secrezione biliare di colesterolo che si associa ad un parallelo aumento della secrezione fecale di steroli neutri. È verosimile che anche nell'uomo ABCG5/ABCG8 rivestano questo ruolo fisiologico di "difesa" nei confronti dell'eccesso di colesterolo presente nella dieta, condizionandone da un lato l'assorbimento intestinale dall'altro facilitandone l'eliminazione at-

traverso la bile attraverso l'attivazione del sensore di colesterolo "quale il fattore trascrizionale LXR".

Nel corso degli anni '90 numerosi gruppi di ricerca hanno focalizzato le proprie

risorse sull'identificazione di trasportatori per il colesterolo localizzati a livello dell'orletto a spazzola degli enterociti. Kramer e collaboratori hanno identificato due proteine trans-membrana di 80 e 145 kilodalton, candidate al ruolo di regolatori dell'assorbimento intestinale del colesterolo. Entrambe differiscono dalle proteine finora descritte candidate al ruolo di trasportatori del colesterolo (SR-B1, ABCA1, ABCG5, ABCG8), ma la loro struttura molecolare è fino ad oggi rimasta sconosciuta.

Recentemente è stato sviluppato un nuovo inibitore dell'assorbimento del colesterolo, chiamato ezetimibe, che riduce l'assorbimento intestinale del colesterolo senza influire sull'espressione intestinale dei geni SR-B1, ABCA1, ABCG5 o ABCG8. È stato chiarito che ezetimibe inibisce l'attività dei trasportatori situati a livello dell'orletto a spazzola degli enterociti che mediano attivamente l'uptake del colesterolo.

LA PROTEINA NPC1L1

Altmann e collaboratori hanno identificato nella Niemann-Pick C1-like 1 protein (NPC1L1) il candidato ideale al ruolo di trasportatore di colesterolo sensibile all'azione di ezetimibe. NPC1L1 è caratterizzata da oltre il 50% di omologia aminoacidica a NPC1, che risulta implicata nello sviluppo di patologie dell'accumulo del colesterolo quali la Niemann Pick di tipo C e svolge funzioni di smistamento intracellulare del colesterolo.

Tuttavia a differenza di NPC1, che viene espressa in un gran numero di tessuti, NPC1L1 è espressa prevalentemente a livello del tratto gastro-enterico, ed in particolare nel digiuno prossimale; topi privi di NPC1L1 mostrano una riduzione del 70% dell'assorbimento intestinale del colesterolo rispetto ai ceppi wild-type, che non viene modificato dall'utilizzo di ezetimibe.

Tuttavia i primi tentativi di ricostruire in vitro

i meccanismi di assorbimento del colesterolo utilizzando NPC1L1 sono risultati difficoltosi anche se dati recenti in vitro hanno dimostrato un legame diretto tra ezetimibe e questa proteina. Altre proteine potrebbero coadiuvare la NPC1L1 nel favorire l'assorbimento del colesterolo in particolare tali strutture proteiche comprendono la caveolina 1 e l'annessina 2, le quali si pensa vengano a formare un eterodimero.

Il trattamento farmacologico con ezetimibe distrugge tali eterodimeri esclusivamente in topi ipercolesterolemici (sottoposti a dieta ricca in colesterolo o privi di recettore per le LDL), indicando che questi potrebbero essere ulteriori bersagli dell'attività di ezetimibe.

Nel loro complesso tali studi suggeriscono che al di là di ABCG5, ABCG8 ed NPC1L1 altri trasportatori possano essere coinvolti nell'assorbimento del colesterolo, il quale, è bene ricordare, consiste in un processo caratterizzato da più tappe, regolato da più geni, la cui efficienza è determinata dall'effetto netto derivante dall'influsso e dall'efflusso attraverso l'orletto a spazzola degli enterociti.

Da questa breve rassegna emerge la complessità dei processi che riguardano l'assorbimento e la eliminazione del colesterolo. Il numero di proteine (trasportatori, enzimi, proteine strutturali, fattori trascrizionali ecc.) che partecipano a questi processi è molto elevato. Ciò spiega la grande variabilità inter-individuale che caratterizza il metabolismo del colesterolo nell'uomo e la difficoltà nel definire con cura il ruolo dei vari fattori che partecipano a questi processi e le loro reciproche interazioni.

LETTURE CONSIGLIATE

- Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SP, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang L, Murgolo N, Graziano MP. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004; 303: 1201-1204.
- Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, Kwiterovich P, Shan B, Barnes R, Hobbs HH. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 290: 1771-1775, 2000.
- Bosner MS, Lange LG, Stenson WF, Ostlund RE. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic traces and negative ion mass spectrometry. *J. Lipid Res.* 40: 302-308, 1999.
- Brousseau ME. ATP-binding cassette transporter A1, fatty acids, and cholesterol absorption. *Curr. Opin. Lipidol.* 14: 36-40, 2003.
- Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptor and lipid physiology: opening the X-files. *Science* 294: 1866-1870, 2001.
- Davis HR, Zhu LJ, Hoos LM, Tetzloff G, Maguire M, Liu J, Yao X, Iyer SP, Lam MH, Lund EG, Detmers PA, Graziano MP, Altmann SW. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of wholebody cholesterol homeostasis. *J Biol Chem* 2004; 279: 33586-33592.
- Edwards PA, Kast HR, Anisfeld AM. BAREing it all: the adoption of LXR and FXR and their role in lipid homeostasis. *J. Lipid Res.* 43: 2-12, 2002.
- Graf GA, Li P-W, Gerard RD, Gelissen I, White A, Cohen JC, Hobbs HH. Coexpression of ATP-binding cassette proteins ABCG5 and ABCG8 permits their transport to the apical surface. *J. Clin. Invest.* 110: 659-669, 2002.
- Heinemann T, Axtman G., von Bergman K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur. J. Clin Invest.* 23: 827-731, 1993.
- Kesaniemi YA, Miettinen. Cholesterol absorption efficiency regulates plasma cholesterol level in Finnish population. *Eur. J. Clin. Invest.* 17: 391-395, 1987.
- Kesaniemi YA, Ehnholm C, Miettinen TA. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apoprotein E phenotype. *J. Clin. Invest.* 80: 578-581, 1987.
- Kramer W, Girbig F, Corsiero D, Burger K, Fahrenholz F, Jung C, Muller G. Intestinal cholesterol absorption: identification of different binding proteins for cholesterol and cholesterol absorption inhibitors in the enterocyte brush border membrane. *Biochim.Biophys Acta* 2003; 1633: 13-26.
- Lee M-H, Lu K, Hazard S, Yu H, Shulenin S, Hidaka H, Kojima H, Allikmets R, Sakuma N, Pegoraro R, Srivastava AK, Salen G, Dean M, Patel S. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 27: 79-83, 2001.
- McNeish J, Aiello RJ, Guyot D, Turi, T, Gabel C, Aldinger C, Hoppe KL, Roach ML, Royer LJ, de Wet J, Broccardo C, Chimini G, Franco OL. High density lipoprotein deficiency

- and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 4245-5250, 2000.
- Mulligan JD, Flowers MT, Tebon A, Bitgood JJ, Wellington C, Hayden MR, Attie A.D. ABCA1 is essential for the efficient basolateral cholesterol efflux during the absorption of dietary cholesterol in chickens. *J. Biol. Chem.* 278: 13356-13366, 2003.
- Murthy S, Born E, Mathur SN, Field FJ. LXR/RXR activation enhances basolateral efflux of cholesterol in Caco2 cells. *J. Lipid Res* 43: 1054-1064, 2002.
- Ohama T, Hirano K, Zhang Z, Aoki R, Tsujii K, Toyama-NV, Tsukamoto K, Ikegami C, Matsuyama A, Ishigami M, Sakai N, Hiraoka H, Ueda K, Yamashita S, Matsuzawa Y. Dominant expression of ATP-binding cassette transporter-1 on basolateral surface of Caco-2 cells stimulated by LXR/RXR ligands. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296: 625-630, 2002.
- Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, Richardson JA, Hobbs HH, Mangelsdorf DJ. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptor α and β . *J. Biol. Chem.* 277: 18793-18800, 2002.
- Smart EJ, De Rose RA, Farber SA. Annexin 2-caveolin 1 complex is a target of ezetimibe and regulates intestinal cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 3450-3455.
- Sudhop T, von Bergmann K. Cholesterol absorption inhibitors for the treatment of hypercholesterolemia. *Drugs* 62: 2333-2347, 2002.
- Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 43: 92-98, 1986.
- Turley SD, Dietschy JM. Sterol absorption by the small intestine. *Curr Opin Lipidol* 14: 233-240, 2003.
- Weiberger RB, Geissinger BW, Kasala K, Hockey K, Terry JG, Easter L, Crouse JR. Effect of apolipoprotein A-IV genotype and dietary fat on cholesterol absorption in humans. *J Lipid Res.* 41: 2035-2041, 2000.
- Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC, Hobbs HH. Disruption of the *Abcg5* and *Abcg8* in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 99: 16237-16242, 2002.
- Yu L, York J, von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC, Hobbs HH. Stimulation of cholesterol excretion by the liver X receptor agonist requires ATP-binding cassette transporters G5 and G8. *J. Biol. Chem.* 278: 15565-15570, 2003.
- Yu L., Li-Hawkins, Hammer RE, Berge KE, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *J. Clin. Invest.* 671-680, 2002.
- Miettinen TA, Kesaniemi. Cholesterol absorption. Regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. *Am. J. Clin. Nutr* 49: 629-635, 1989.
- Oram JF. ATP-binding cassette transporter A1 and cholesterol trafficking. *Curr. Opin. Lipidol.* 13: 379-381, 2002.
- Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro J-M, Medina J, Li L, Lustig, K, Shan B, Heyman RA, Dietschy JM, Mangelsdorf DJ. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science* 289: 1524-1529, 2000.