

Università degli Studi di Catanzaro "Magna Graecia"



Facoltà di Medicina e Chirurgia

*Scuola di Specializzazione in
Medicina Interna
"P.L. Mattioli"*

Focus On: Colesterolo e Alzheimer

Dr. Vittorio Emanuele

Matricola 68292

Introduzione

Il colesterolo è per molti aspetti, che tenteremo di analizzare in dettaglio, una molecola affascinante. Molto si conosce circa il suo metabolismo sistemico, a causa del fatto che l'aumento della sua concentrazione nel sangue è uno dei fattori di rischio più importanti per lo sviluppo dell'aterosclerosi e, quindi, delle malattie cardiovascolari: queste sono da sole responsabili di quasi la metà delle morti annuali nei paesi occidentali. Lo studio del suo metabolismo a livello sistemico ha tolto attenzione ad un altro distretto corporeo: il sistema nervoso centrale. Solo negli ultimi 5 anni si è cominciato a studiare il metabolismo del colesterolo nel cervello con risultati strabilianti. Che il colesterolo fosse un costituente fondamentale, invece, era noto già a Couerbe, fisiologo e chimico francese della metà del secolo scorso. Nei suoi studi Couerbe concluse che il colesterolo era presente in grandi quantità nel cervello e che, quindi, doveva per forza avere un ruolo fondamentale per la fisiologia cerebrale¹. Una delle differenze fondamentali, da conoscere prima di addentrarsi in questo argomento, è che vi è una profonda differenza nella fisiologia del metabolismo del colesterolo fra i tessuti cerebrali e quelli extra-cerebrali. Le cellule dei tessuti periferici, infatti, si approvvigionano di colesterolo sostanzialmente mediante due vie: la prima è quella della biosintesi endogena, presente in molti tessuti ma primariamente svolta nel fegato; la seconda è quella della captazione delle lipoproteine circolanti nel plasma che sono ricche di colesterolo, per lo più le lipoproteine a bassa densità o LDL. Nel cervello, invece, la barriera emato-encefalica non permette il passaggio di lipoproteine e, quindi, di colesterolo. Nei tessuti

cerebrali, quindi, il colesterolo proviene per lo più dalla produzione endogena. A lungo si è riflettuto sul razionale per il quale la circolazione del colesterolo cerebrale dovesse essere isolata da quella sistemica. La spiegazione più semplice, e proprio per questo forse la più probabile, è che i tessuti cerebrali avessero bisogno di concentrazioni quanto più possibili costanti di colesterolo. Il mantenimento con elevata precisione di costanti quantità di colesterolo cerebrali era, diversamente, molto difficile da ottenere². Il morbo di Alzheimer è una forma di demenza che colpisce il 5% circa della popolazione ultra-sessantacinquenne e fino al 40% della popolazione ultra-ottantacinquenne³. Esistono anche delle forme familiari recentemente caratterizzate a insorgenza precoce, in genere nella IV e V decade di vita⁴. La malattia di Alzheimer è stata descritta per la prima volta nel 1906 dal neuropatologo Alois Alzheimer (1863-1915, Fig. 1).



Fig. 1



Fig. 2

Fu durante la Convenzione Psichiatrica di Tubingen (3-4 novembre 1906) che Alzheimer presentò il caso di una donna di 51 anni affetta da una sconosciuta forma di demenza. Soltanto nel 1910, però, la malattia ebbe un nome, quando Emil Kraepelin, il più famoso psichiatra di lingua tedesca dell'epoca, ripubblicò il suo trattato "Psichiatria", nel quale definiva una nuova forma di demenza scoperta da Alzheimer, chiamandola appunto malattia di Alzheimer. Peraltro, nella caratterizzazione della malattia ebbe un ruolo chiave anche un giovane ricercatore italiano di nome Gaetano Perusini (1879-1915, Fig. 2). L'impatto socio-economico del morbo di Alzheimer è tremendo, non solo per la prevalenza della malattia, tra l'altro in aumento, ma soprattutto per i costi sociali della malattia. Solo negli Stati Uniti D'America quest'ultimo si aggira sui 100 miliardi di dollari per anno, superando di gran lunga altre patologie tipicamente associate all'età avanzata⁵.

Metabolismo del colesterolo nel Sistema Nervoso Centrale

Praticamente la totalità del colesterolo cerebrale (>99,5%) è presente in forma esterificata essenzialmente in due distretti ben localizzati: le guaine mieliniche e le membrane delle cellule neuronali e astrocitiche⁶. E' stato a tal proposito calcolato che circa il 70% del colesterolo cerebrale è associato alle guaine mieliniche; è proprio per questo motivo che il cervello risulta essere l'organo umano a più elevato contenuto di colesterolo. Non meno interessante il rilievo della vita media di una molecola di colesterolo a livello cerebrale: 5 anni⁷. Questo dato, in un organo che ha un livello metabolico generalmente molto più elevato dei restanti organi nel corpo umano (circa 9 volte⁸), si traduce sul piano metabolico in una capacità di riciclaggio elevatissima. Una così efficace riutilizzazione del colesterolo a livello cerebrale è, in ultima analisi, correlata con l'elevata costanza delle sue concentrazioni nel sistema nervoso centrale. Nonostante questo, però, il cervello ha bisogno di eliminare, seppur in piccole quantità, il colesterolo in eccesso. L'escrezione del colesterolo cerebrale, come vedremo più in dettaglio, avviene previa conversione in una sostanza con caratteristiche chimico-fisiche tali che gli consentono l'attraversamento della barriera emato-encefalica e la successiva eliminazione mediante il fegato attraverso gli acidi biliari. La molecola che consente tutto questo è il 24S-idrossicolesterolo, un ossisterolo prodotto esclusivamente nel cervello da una isoforma del citocromo P450 preferenzialmente a livello delle membrane plasmatiche neuronali. Proprio a livello delle membrane plasmatiche il colesterolo svolge uno dei suoi ruoli biologici più importanti per tutti gli organismi viventi a tutti i livelli evolutivi. La comparsa del

colesterolo tra i costituenti delle membrane biologiche insieme ai fosfolipidi, alle sfingomieline, *etc.* è stato un passo in avanti fondamentale per la vita come oggi noi la conosciamo. La modulazione della quantità di colesterolo in una determinata area della membrana, infatti, è il presupposto fondamentale per il funzionamento di molti complessi proteici-enzimatici deputati alle funzioni cellulari più disparate: trasduzione del segnale, scambio ionico, ingresso sostanze e gas, endo ed eso-citosi recettore-mediata e altro ancora. La vita superiore animale e quella intelligente non sarebbero potute esistere senza l'incorporazione del colesterolo tra i costituenti delle membrane biologiche. Tutto questo avviene a causa del fatto che il colesterolo conferisce rigidità strutturale alle membrane. E' noto, a tal proposito, che difetti congeniti del metabolismo sintetico del colesterolo, quando sono compatibili con la vita, producono gravi ritardi mentali (es. Smith-Lemli Opitz Sindrome⁹). Come abbiamo già accennato durante l'introduzione, il colesterolo cerebrale è completamente e costantemente isolato dalla circolazione sistemica. Molti studi di localizzazione radioisotopica, che utilizzavano inoculazione *in vivo* di colesterolo radiomercato, lo hanno chiaramente ed inequivocabilmente dimostrato anche nell'uomo^{10,11,12,13}. Altrettanto chiara è la sede di produzione del colesterolo all'interno del sistema nervoso centrale. Sia gli astrociti che i neuroni sono in grado di sintetizzare colesterolo *ex novo*. Gli astrociti, tuttavia, sono in grado di mantenere una produzione, che è costantemente di almeno tre ordini di grandezza superiore a quella tipica dei neuroni o, all'esterno del sistema nervoso centrale, dei fibroblasti. Anche gli oligodendrociti, le cellule che sovrintendono ai processi di mielinizzazione,

sono in grado di produrre elevate quantità di colesterolo. La gran parte di questi studi, comunque, è stata effettuata per motivi tecnici su cellule neuronali embrionali. E' probabile, quindi, che al termine dell'embriogenesi i neuroni cessino la produzione del colesterolo per concentrarsi, dal punto di vista energetico-metabolico, nella produzione degli stimoli elettrici. Alcuni studi, infatti, dimostrerebbero che i neuroni sono in grado di importare efficacemente il colesterolo di cui hanno bisogno dalle cellule di supporto gliali. Questa importazione avviene "a costo zero" dal punto di vista energetico; la produzione di colesterolo, infatti, richiede grandi quantità di energia cellulare, generalmente sotto forma di Adenosina-Trifosfato o ATP (Fig. 3)^{14,15,16}.

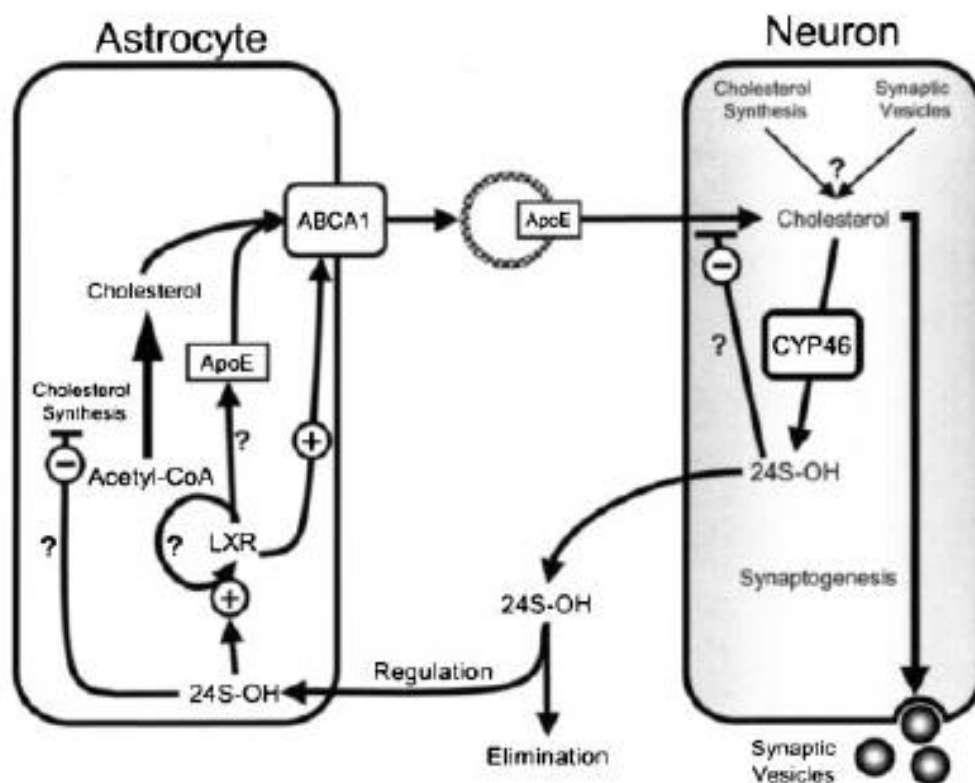


Fig. 3

A questo punto è di estrema utilità ricordare che anche nel cervello il momento metabolico limitante per la sintesi endogena del colesterolo è a livello della tappa enzimatica gestita dall'enzima HMG CoA-reduttasi. L'enzima può essere inibito attraverso una classe farmacologia nota come “statine”. L'inibizione si traduce in una efficace e sicura riduzione della produzione di colesterolo. Abbiamo compreso bene come e dove avviene la produzione di colesterolo a livello cerebrale, ma come avviene il trasporto del colesterolo all'interno del sistema nervoso centrale? Il trasporto avviene mediante una classe di lipoproteine, le ApoE, che veicolano il colesterolo all'interno del cervello da un distretto all'altro, fra una cellula e l'altra. I tessuti cerebrali esprimono una vasta classe recettoriale, compreso il recettore per le LDL, per la ricezione delle ApoE circolanti ma, ad oggi, il ruolo delle varie sottoclassi recettoriali non è noto. È stato invece recentemente chiarito che, almeno nei modelli animali, il *deficit* di questi sistemi recettoriali non sembra associato con anomalie morfo-strutturali maggiori^{17,18}. Esistono, altresì, diverse isoforme di apolipoproteineE, tra cui le e4 che sono notoriamente importanti fattori di rischio per la malattia di Alzheimer¹⁹. Non è chiaro al momento il motivo di questa associazione, ma è probabile che le ApoE abbiano un ruolo nella *clerance* di alcune sostanze cerebrali tra le quali la beta-amiloide. L'isoforma e4 avrebbe, rispetto alle altre, una minore capacità di legare queste sostanze e questo spiegherebbe la sua prevalenza nei malati di Alzheimer. Bisogna aggiungere, per completare il quadro del trasporto intracerebrale del colesterolo, che un ruolo importante è svolto anche dalla classe di trasportatori transmembrana ABCA1. Questi trasportatori, definiti per la loro

funzione “a cassetta o vassoio”, sfruttano l’energia fornita ancora una volta dall’ATP e innescano il meccanismo di navetta, realizzato poi mediante le apolipoproteineE, che trasporta il colesterolo dalla sede di produzione, gli astrociti, verso la sede di utilizzazione, i neuroni. Nei neuroni il colesterolo può essere utilizzato per le fibre mieliniche piuttosto che per le membrane plasmatiche. Il colesterolo neuronale in eccesso viene trasformato a livello della membrana plasmatica da una sottoclasse di enzimi appartenente alla famiglia dei citocromi P450: il CYP46. Questo enzima trasforma il colesterolo in 24S-idrossicolesterolo, sostanza in grado di attraversare liberamente la barriera emato-encefalica e di essere escreta mediante gli acidi biliari, dopo essere stata captata dal fegato. Il 24S-idrossicolesterolo, inoltre, a livello astrocitario è in grado di inibire la produzione endogena di colesterolo e di attivare l’espressione dei trasportatori ABCA1. Quest’ultima attivazione si esplica mediante i Liver X Receptor, stimolati direttamente dal 24S-idrossicolesterolo, che mediante il legame diretto al patrimonio genetico in sede nucleare sono in grado di attivare la trascrizione dei geni di ABCA1 (Fig. 3). Dal momento che il 24S-idrossicolesterolo è prodotto esclusivamente dal cervello, il suo dosaggio plasmatico è spesso usato in letteratura per valutare l’omeostasi del metabolismo del colesterolo nel sistema nervoso centrale^{14,15}. La via di escrezione che abbiamo descritto fino a qui è responsabile della maggior parte dell’escrezione cerebrale del colesterolo (circa 7mg/24h di 24S-idrossicolesterolo), ma non è l’unica. Ne esiste, infatti, una accessoria o secondaria. Circa 1mg/24h di colesterolo legato alle ApoE, infatti, lascia il sistema nervoso centrale attraverso il liquido cefalo rachidiano²⁰. Riassumendo, il

colesterolo cerebrale, che non può attraversare la barriera emato-encefalica, è isolato dal resto della circolazione sistemica e viene prodotto prevalentemente a livello dei tessuti di supporto cerebrali: le cellule astrocitarie e gliali. Il colesterolo prodotto esce dalle cellule mediante i trasportatori ABCA1 e, grazie alle ApoE del circolo cerebrale, raggiunge la sede di utilizzazione, i neuroni. Nelle cellule neuronali il colesterolo viene utilizzato per le funzioni biologiche; quello in eccesso viene trasformato in 24S-idrossicolesterolo dal citocromo CY46P ed escreto dal sistema nervoso centrale dopo aver attraversato la barriera emato-encefalica. Una volta nella circolazione sistemica, infine, il 24S-idrossicolesterolo viene captato dal fegato, coniugato con gli acidi biliari e quindi eliminato attraverso il tubo digerente (Fig. 4).

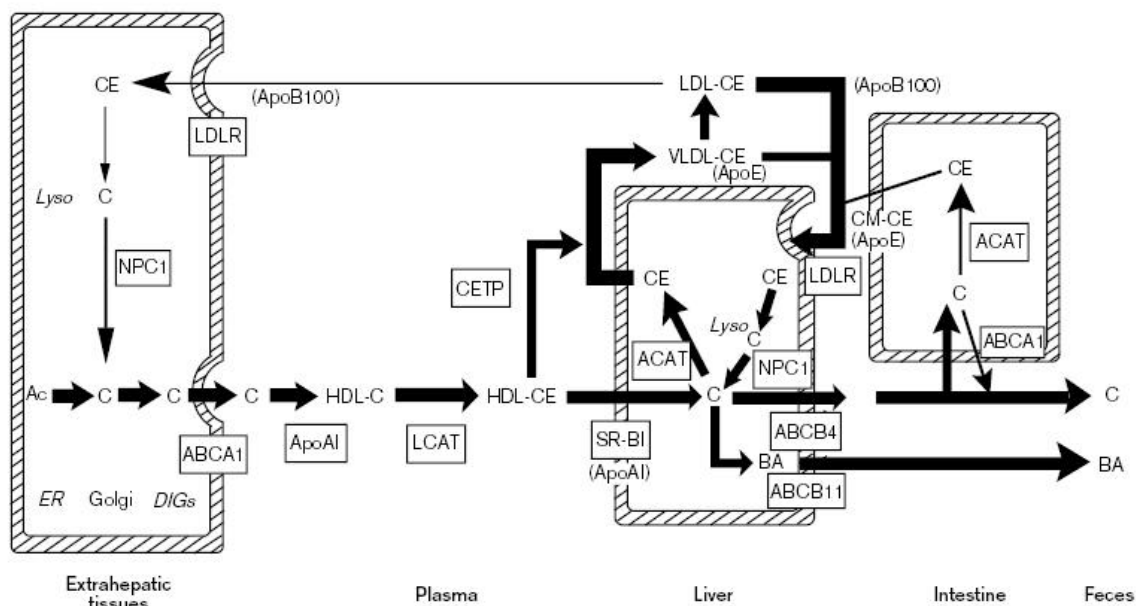


Fig. 4

Pagotenesi molecolare della malattia di Alzheimer

La malattia di Alzheimer inizia con la perdita della memoria a breve termine per proseguire nella sua storia naturale, tipicamente da 5 a 15 anni, con una vasta gamma di alterazioni dello stato emotivo e cognitivo. Nella sua forma più frequente, quella a insorgenza tardiva o LOAD (Late Onset Alzheimer Disease), la malattia inizia classicamente dopo i 65 anni e si caratterizza per l'assenza pressoché completa di alterazioni motorie o sensoriali presenti solo in rarissimi casi^{21,22}. Ad oggi, nonostante i progressi in campo medico, la diagnosi di certezza si può fare solo *post mortem* mediante l'esame istologico-autoptico del cervello. All'esame microscopico la diagnosi si può fare in presenza della triade composta da placche contenenti A β (a localizzazione extracellulare o vasale), aggregati neurofibrillari o *neurofibrillary tangles* (NFTs in sede intracellulare) contenenti proteine tau e perdita di sostanza neuronale a livello subcorticale e ippocampale. Risulta abbastanza semplice comprendere in che modo avvenga la perdita neuronale, sebbene non siano noti i meccanismi biologici molecolari, mentre più complessa è la genesi degli aggregati di A β e dei NFTs. Di certo, sono queste lesioni istologiche che causano prima la disfunzione dei neuroni e poi la loro morte, che su scala tissutale si traduce, infine, in perdita di massa sub-corticale. Numerose sono le proteine contenute nelle placche senili tipiche della malattia di Alzheimer, sebbene quella maggiormente presente, e che probabilmente innesca l'aggregazione e la formazione della placca stessa, sia una proteina del peso di 4 kDa: la A β . Questa si produce a partire dalla proteina precursore della amiloide β , la APP (Amyloid β Protein Precursor), attraverso il

taglio sequenziale da parte di un complesso enzimatico noto come secretasi. Il primo taglio è a opera di una aspartil-proteasi nota come β -secretasi e avviene nella regione amino-terminale di APP. In seguito al taglio β -secretasico viene prodotta una proteina, poi secreta, nota come sAPP β (secreted APP β), dal lato amino-terminale e una più piccola ancora legata alle membrana plasmatica dal lato carbossi-terminale, la CTF β (Carboxy-Terminal Fragment β). Quest'ultimo residuo, il CTF β , è quello che va incontro al secondo taglio, da parte della γ -secretasi. Questa seconda proteolisi produce residui proteici di diversa lunghezza, tra cui quello di interesse per la patogenesi dell'Alzheimer l'A β -42 (Fig. 5)²³.

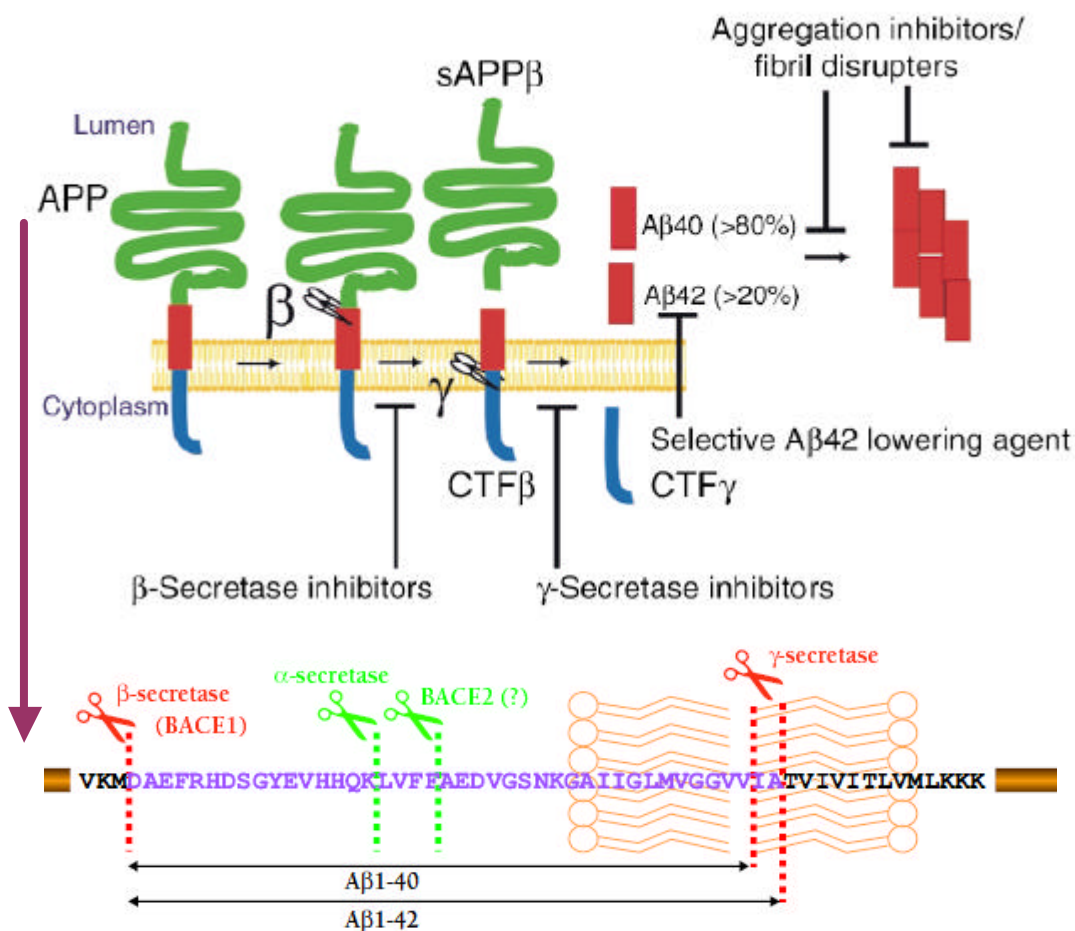


Fig. 5

Oltre al residuo A β -42 (circa il 20%), viene prodotto un secondo residuo extracitoplasmatico, il A β -40 (80%), non patogeno perché munito di scarse capacità di aggregazione e precipitazione in placche. La parte rimanente del residuo carbossi-terminale viene, infine, rilasciata nel citoplasma: è il CTF γ o Carboxy-Terminal Fragment γ . I frammenti A β -42 in tal modo prodotti si aggregano nello spazio extracellulare e crescendo di dimensioni producono le placche amilodi, uno dei tre marcatori istopatologici della malattia di Alzheimer. Per capire la formazione degli aggregati intracitoplasmatici di proteina tau, il secondo marcatore istopatologico dell'Alzheimer, dobbiamo passare all'analisi più dettagliata dell'enzima γ -secretasi e di tutto il suo “*network* metabolico” (Fig. 6)²⁴.

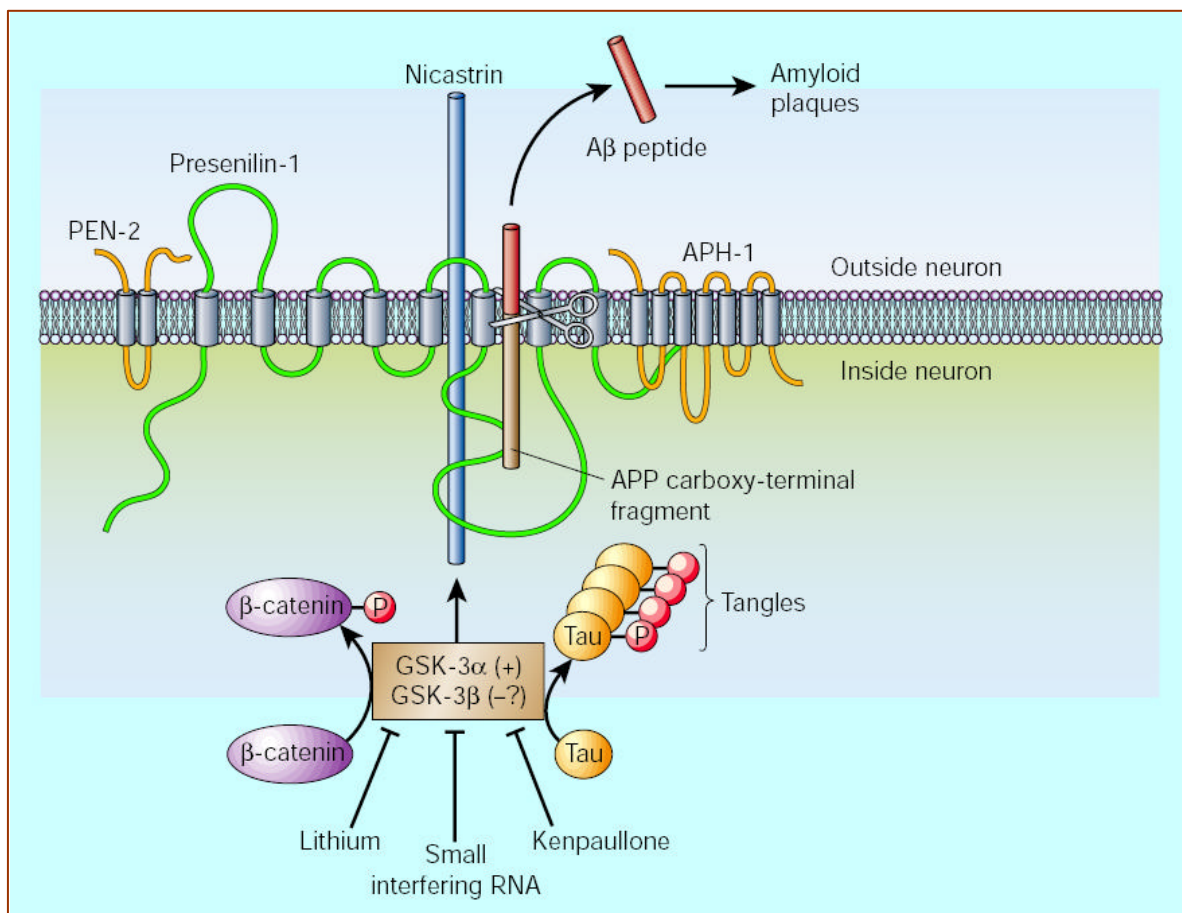


Fig. 6

Il complesso enzimatico γ -secretasico è costituito da almeno quattro proteine²⁵: presenilina 1, A β 1, PEN-2 e nicastrina. L'iperproduzione di proteina tau è da attribuire all'attività fosforilasi dell'enzima glicogeno sintasi chinasi 3 o GSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3). Infine, dobbiamo aggiungere per completezza che è stato da poco caratterizzato un altro enzima in grado di utilizzare APP come substrato per un processo di proteolisi: l' α -secretasi. Quest'ultima via, comunque, produce residui non patologici per il sistema nervoso centrale. Abbiamo, a questo punto, una visione completa dei meccanismi molecolari che portano alla produzione dei due prodotti tossici per il cervello la cui aggregazione, precipitazione e organizzazione in placche extracellulari (A β -42) e aggregati intracitoplasmatici (tau) innescano i meccanismi, questi invece ancora poco noti, di neuro-tossicità, che hanno come evento finale la morte delle cellule neuronali (Fig. 7).

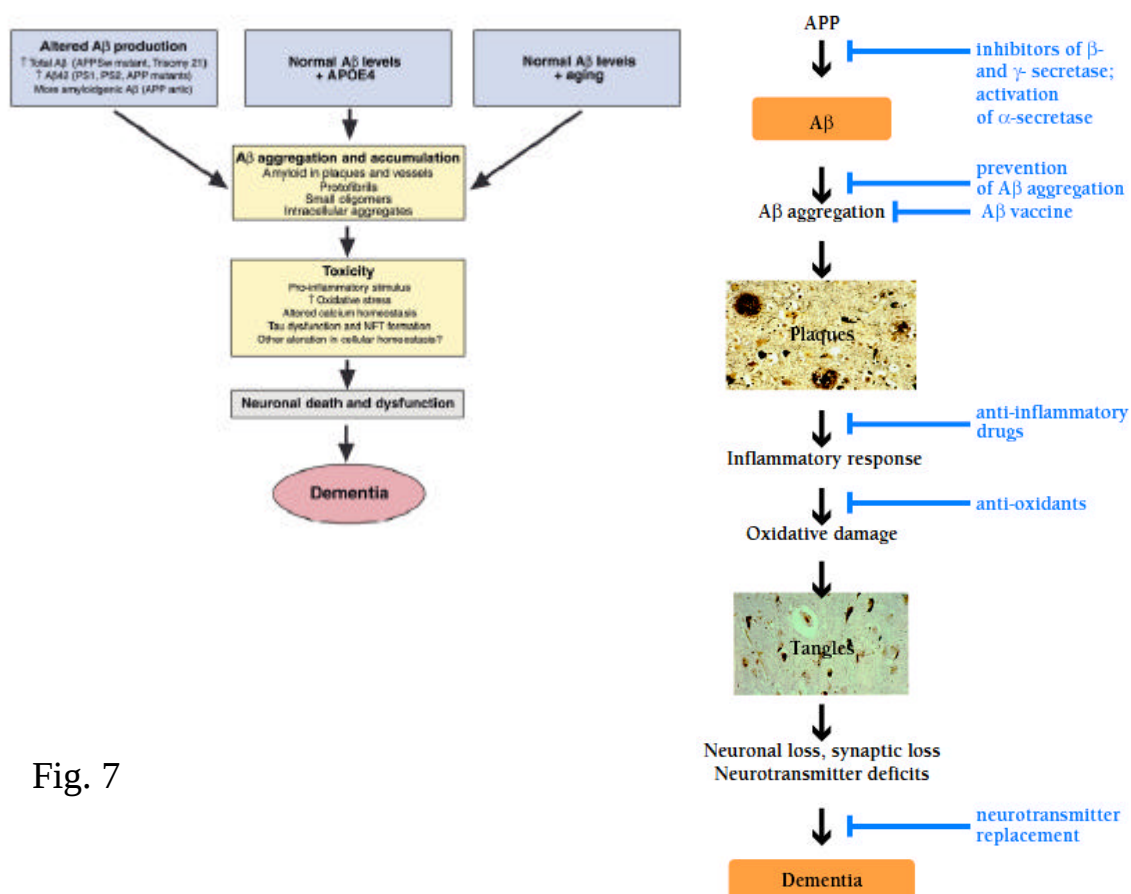


Fig. 7

Colesterolo e malattia di Alzheimer

Esistono molti dati epidemiologici in letteratura, la maggior parte dei quali prodotti nel corso degli ultimi anni (il primo sembra essere del 1997 ma il 90% è posteriore al 2000), che hanno stabilito una relazione fra colesterolo e malattia di Alzheimer. Studi trasversali hanno dimostrato l'associazione fra aterosclerosi, di cui l'ipercolesterolemia è un fattore di rischio maggiore, e morbo di Alzheimer²⁶; in questi studi l'aterosclerosi era positivamente associata con tutte le forme di demenza, sia quelle vascolari sia quella di Alzheimer. Studi longitudinali²⁷⁻²⁸ hanno dimostrato, inoltre, come avere elevati livelli medi di colesterolo plasmatici in età adulta risultasse essere un fattore di rischio per lo sviluppo della malattia di Alzheimer in età senile. A tal proposito, comunque, esistono anche dati negativi provenienti dalla popolazione del Framingham Heart Study²⁹. Un interessante studio autoptico ha anche dimostrato che elevati livelli di colesterolo HDL poco prima della morte erano associati con meno gravi lesioni istologiche tipiche dell'Alzheimer³⁸. A tal proposito, tra l'altro, esistono anche dati trasversali italiani in cui, però, l'associazione con i valori di HDL colesterolo è valida solo per le demenze di origine vascolare³⁹. Un fattore di confondimento, a questo punto, è introdotto dagli studi in letteratura che associano la presenza di fattori di rischio cardiovascolari (anche non lipidici come l'ipertensione) in età media e il successivo sviluppo di malattia di Alzheimer^{28,40}. Al di là degli studi clinici sull'uomo esiste, inoltre, una discreta mole di dati provenienti da quelli sui modelli animali, che sembrerebbero confermare il ruolo del colesterolo come fattore in grado di promuovere la malattia di Alzheimer (ratti a dieta

ipercolesterolemica, per esempio, producono maggiori quantità di A β -42 nonostante, come è noto, il colesterolo dietetico non attraversi la barriera emato-encefalica)^{30,31,32}. Numerosi sono, per finire, i dati della letteratura provenienti dagli esperimenti *in vitro*, per lo più cellule embrionali umane o ippocampali di ratto^{33,34,35,36}. Questi ultimi studi sono stati, come spesso accade, i più utili per studiare gli intimi meccanismi molecolari attraverso cui il colesterolo entra a far parte della patologia di Alzheimer modulando la produzione di A β amiloide. Da questi studi è stato possibile capire che la diminuzione del contenuto di colesterolo nelle culture cellulari neuronali abbassa la produzione di A β -42 attraverso una diminuzione della attività enzimatica amiloidogenetica di β e γ -secretasica. La proteolisi di APP non amiloidogenetica da parte dell' α -secretasi, invece, risulta essere stimolata in presenza di riduzione del colesterolo nel mezzo di coltura. I dati fin qui riportati, presi insieme, hanno indotto alcuni autori a formulare un'ipotesi in grado di dare un razionale a questi risultati³⁷. Secondo questa teoria, la modulazione dell'attività secretasica pro-amiloidogenetica sarebbe da attribuire alla quantità di colesterolo presente nell'area della membrana plasmatica (detta domini membranosi) in cui l'attività enzimatica si svolge. Domini di membrana poveri di colesterolo favorirebbero l'attività dell' α -secretasi i cui prodotti non sono patologici. Domini di membrana ricchi in colesterolo (*lipid rafts*) favorirebbero, di contro, l'attività degli enzimi β e γ -secretasi che, come è noto, producono A β -42. Tutto questo ha anche una spiegazione sul piano della fisica della fluidodinamica. L'arricchimento dei domini di membrana con il colesterolo, infatti, fa mutare completamente le caratteristiche chimico-fisiche della membrana stessa, come

Cholesterol-rich **Cholesterol-poor**

membrane-domains

α

β

$A\beta$

Nell'ambito di questo modello trova posto anche il ruolo delle apolipoproteine E. La loro funzione nel sistema nervoso centrale, come abbiamo avuto modo di ricordare altrove, è quello di trasportare il colesterolo nel cervello da un distretto all'altro. Un particolare genotipo, quello e4, avrebbe, inoltre, una ridotta capacità di legare e allontanare dal cervello la A β -42 che, quindi, nei portatori di questo genotipo (specie quello omozigote e4/e4) si accumulerebbe più facilmente e più velocemente, con ovvie conseguenze sul piano fisiopatologico prima e clinico dopo. Le ApoE, in più, gestiscono l'uscita del colesterolo dai neuroni. Il colesterolo che raggiunge i neuroni, infatti, se non viene utilizzato e se non viene trasformato in 24S-idrossicolesterolo per essere escreto, può rifluire mediante le ApoE nella circolazione cerebrale, per essere ridistribuito ad altri distretti del sistema nervoso centrale. Le isoforme e4 delle ApoE hanno dimostrato di essere in grado di mantenere un minore efflusso di colesterolo dai neuroni se paragonate alle isoforme E3 o E2. Questo significa che in un soggetto omozigote per ApoE4 mediamente si ha una più elevata concentrazione intracitoplasmatica di colesterolo totale e che, quindi, è facilitata la creazione di domini di membrana ricchi in colesterolo (*lipid rafts*), che a loro volta favoriscono le proteolisi amilodigenetiche di APP da parte della β e γ -secretasi. Sebbene, quindi, non si possa porre la parola fine sull'argomento, senz'altro vi è un gran numero di ipotesi che possono essere generate e che devono essere verificate. Sebbene non sia possibile dire se l'ipercolesterolemia è un fattore di rischio per la malattia di Alzheimer, non si può, di contro, negare come un qualche collegamento tra i due argomenti esista. Le terapie ipocolesterolemizzanti, per esempio, potrebbero essere in

grado di influenzare la storia naturale delle demenza di Alzheimer? Esistono dei marcatori bioumorali per stadiare o seguire nel tempo la progressione delle malattia? E' possibile impiegare sostanze per inibire la produzione delle sostanze tossiche che provocano neurotossicità e, di seguito, demenza? Queste domande sono di estremo interesse soprattutto perché le terapie che attualmente si usano nell'Alzheimer (inibitori dell'acetilcolinesterasi) danno benefici molto variabili e comunque sempre temporanei senza, tra l'altro, minimamente influenzare la storia naturale della malattia. Esistono diversi studi osservazionali in cui l'assunzione di statine si associa ad un effetto protettivo sullo sviluppo dell'Alzheimer^{41,42,43,44,45,46,47} (Tabella I).

Summary of Statin Effects on Biomarkers for the Development of Alzheimer Disease

Statin	Dose	N	Subject Characteristics	Age (range or mean)	Effect
Simvastatin	80 mg/d	18	Hypercholesterolemic	21–70	Decreased plasma 24S-OH/cholesterol*
Pravastatin	10 mg/d	46	MMSE >25	33–83	No effect on plasma Aβ ₁₋₄₀ or Aβ ₁₋₄₂
Simvastatin	20 mg/d	19	AD patients MMSE 22±4	64–84	No effect on plasma Aβ ₁₋₄₂ Decreased CSF αAPP _{sol} and βAPP _{sol}
Lovastatin	10–60 mg/d	94	Hypercholesterolemic	29–70	Dose related decrease in serum Aβ
Simvastatin	40 or 80 mg/d	20/24	AD patients MMSE 12–26	68	No effect on CSF Aβ ₁₋₄₀ or Aβ ₁₋₄₂ No change in CSF 24S-OH/cholesterol*
Statin†	40 mg/d	31	AD patients‡	65	No change in plasma 24S-OH/cholesterol*
Statin†	Variable, see reference	150	See reference	See reference	No change in 24S-OH/cholesterol* vs a normocholesterolemic group

Tabella I

Si tratta di studi, come si vede, contraddittori. I limiti sono molti, sono osservazionali, hanno *end-point* surrogati, a volte non sono disegnati primariamente per valutare l'effetto sull'Alzheimer. Esistono anche metanalisi e *post hoc* analisi su larghe coorti provenienti da *trial* disegnati per testare l'effetto delle statine sulla riduzione del rischio cardiovascolare^{48,49,50}. A tal proposito, inoltre, disponiamo di dati retrospettivi

su una nostra coorte di donne in post-menopausa, di età compresa fra 45 e 75 anni, arruolate in maniera consecutiva nell'ambito dell'ambulatorio per la prevenzione delle malattie cardiovascolari. Insieme al profilo di rischio cardiovascolare globale si è valutato, inoltre, anche la *performance* cognitiva mediante Mini Mental State Examination (MMSE). La popolazione è stata, quindi, suddivisa in base alla presenza o meno di iperlipidemia e di terapia statinica, con lo scopo di verificare se vi erano differenze di *performance* cognitiva. È stato, in tal modo, possibile dimostrare che non vi erano correlazioni statisticamente significative fra i diversi sottogruppi (Tabella II).

N=125 Età: 45-75	- HLP	+ Statine + HLP	- Statine + HLP	p
Età Media	56,28	61	56,3	NS
MMSE Medio	27,7	26,35	27,61	NS
N	66	18	41	

Tabella II

Risultava assente anche la correlazione fra colesterolo totale o HDL e MMSE (Fig. 9).

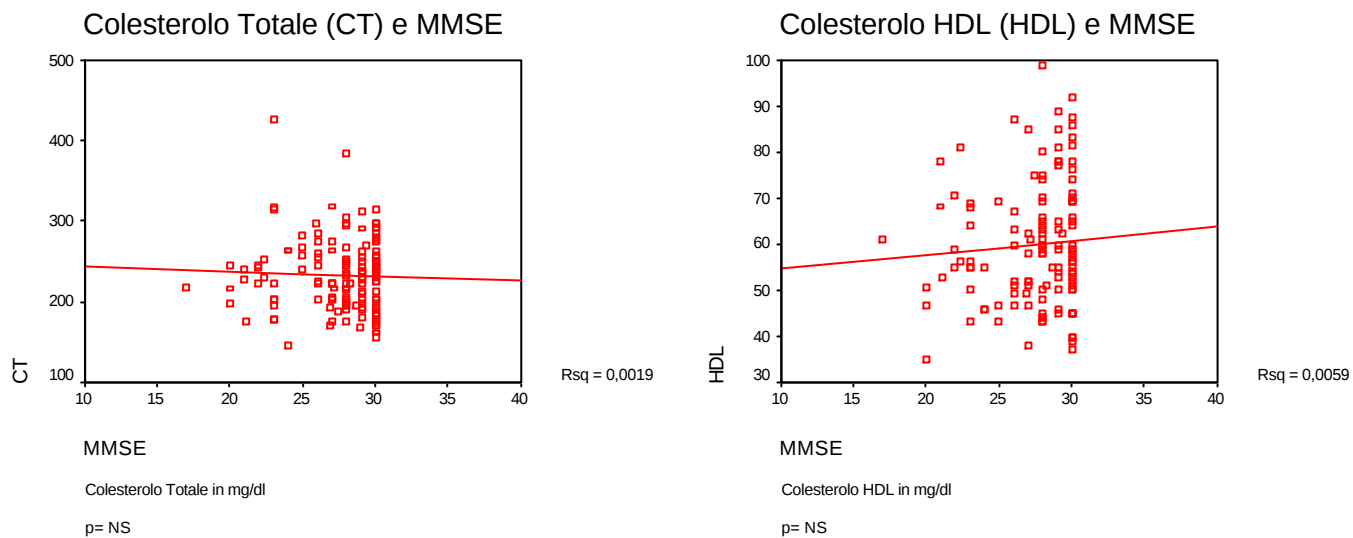


Fig. 9

Tra i dati attesi, correlazioni inverse statisticamente significative erano presenti fra stato cognitivo, età e pressione arteriosa sistolica (Fig. 10).

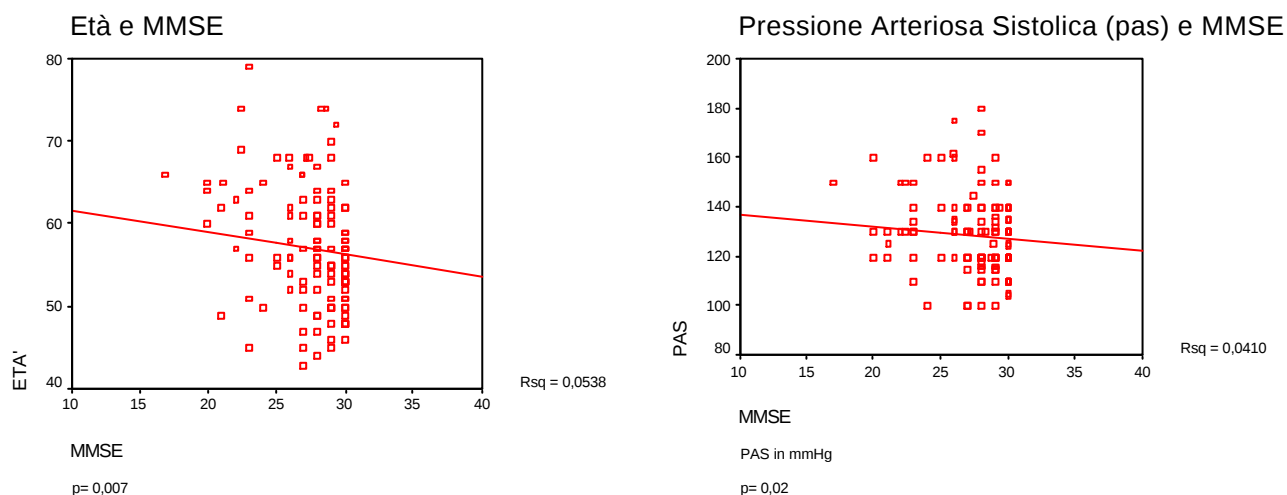


Fig. 10

E' noto, infatti, che la *performance* cognitiva peggiora sia con l'avanzare dell'età che con l'ipertensione arteriosa. Passando ora agli studi *in vitro*, questi hanno anche

dimostrato che la somministrazione di statine riduce i livelli di $A\beta$ -42⁵¹. Tutti questi studi, purtroppo, per i limiti su citati non possono essere conclusivi. Per tale scopo necessitano studi prospettici, *in cieco*, randomizzati, placebo controllati. Nei pochi studi di questo tipo completati⁵², le statine hanno dimostrato di ridurre le concentrazioni di $A\beta$ -40 nel liquido cefalorachidiano e le concentrazioni di 24S-idrossicolesterolo. I pazienti randomizzati, però, sono ancora davvero pochi. Bisognerà, quindi, attendere il completamento di *trial* con coorti numericamente più importanti⁵³. L'attesa è alta dal momento che vi sono tutti i presupposti fisiopatologici affinché le statine possano entrare nell'armamentario terapeutico contro il morbo di Alzheimer. I primi risultati dovrebbero arrivare nell'arco di un paio d'anni.

Conclusioni

Negli ultimi cinque - dieci anni abbiamo assistito ad un notevole incremento delle conoscenze sul metabolismo del colesterolo nel sistema nervoso centrale e questo ha consentito l'apertura di un vero e proprio filone di ricerca. Come abbiamo avuto modo di analizzare, esistono una serie di dati che suggeriscono l'ipotesi che il colesterolo possa svolgere un ruolo fondamentale nella patogenesi dell'Alzheimer e, più in generale, nella patogenesi di tutte le malattie neurodegenerative. Tutto ciò ha portato a pensare che la terapia ipocolesterolemizzante, e più in particolare quella mediante le statine, possa ritardare o addirittura prevenire lo sviluppo di queste malattie. Ad oggi, comunque, non è possibile trarre conclusioni che siano esaustive a tal riguardo almeno fino alla fine di *trial*, attualmente in corso, disegnati a tal scopo. Entrando per un attimo nel solo ambito delle ipotesi, lo stesso meccanismo, tramite cui il colesterolo influenza lo sviluppo dell'Alzheimer, potrebbe essere presente nel mediare altri effetti dovuti alla riduzione del *pool* di colesterolo intracellulare e, probabilmente, erroneamente attribuiti a effetti non ipocolesterolemizzanti, o ancillari, delle statine. Molte sono, infatti, le attività enzimatiche che si svolgono sulle membrane cellulari e che hanno un ruolo fondamentale nell'aterosclerosi o in altre patologie (produzione di ossido nitrico, attività lipolitiche, *etc.*). A questo, si aggiunga che difficilmente è possibile separare gli effetti che le statine hanno sulla fisiopatologia da quelli che hanno, molto più semplicemente, sul metabolismo intracellulare del colesterolo. Dopo tutto, sotto questo punto di vista, lo stesso effetto principale delle statine, la riduzione della colesterolemia plasmatica, sarebbe già di

per sé un “effetto ancillare”. La statina, infatti, non agisce direttamente a livello del colesterolo nel torrente ematico, ma induce la riorganizzazione in senso positivo (*up-regulation*) dell’espressione del recettore delle LDL sulla membrana plasmatica vasale epatocitaria (a sua volta dovuto alla riduzione del *pool* intracitoplasmatico di colesterolo indotto dall’inibizione dell’enzima HMG-CoA-reduttasi), che consente al fegato di sottrarre una quota maggiore di LDL dal circolo sanguigno. E’ necessario che studi in questo senso siano condotti a livello molecolare per valutare se funzioni biologiche importanti possano essere modulate a seconda che queste si svolgono in un distretto membranoso ricco di colesterolo (*lipid rafts*), e per questo più rigido e con caratteristiche chimico-fisiche e di permeabilità del tutto peculiari, piuttosto che in un dominio dove il colesterolo è presente in piccole quantità. E’ già noto da tempo, inoltre, che lo stesso processo di internalizzazione delle LDL è ancora una volta un esempio di questo tipo, avvenendo mediante endocitosi mediata dai recettori solo nelle fossette rivestite di clatrina, in zone della membrana plasmatica, quindi, specializzate in domini. In attesa che la scienza progredisca sotto questi punti di vista non possiamo, intanto, che ammirare il bellissimo esempio di perfezione che la natura, con l’inserimento del colesterolo nei processi legati alla vita, ci ha fatto. Senza il colesterolo non sarebbe possibile la vita (ruolo nelle membrane), tanto meno quella intelligente (ruolo nel Sistema Nervoso Centrale) e non sarebbe possibile la crescita degli organismi (ruolo nella sintesi di un grandissimo numero di ormoni) e tanto meno la loro riproduzione (ruolo nella sintesi degli ormoni sessuali). Per ironia della sorte, nella maggior parte delle morti degli uomini, almeno nei paesi più evoluti,

il colesterolo svolge un ruolo fondamentale questa volta come fattore di rischio. La comprensione ancora più intima dei meccanismi molecolari, in cui questa particolare molecola è coinvolta, sicuramente ci consentirà di percorrere nuove strade nel campo della scienza della vita e di aprire nuove porte nell'ambito della terapia medica.

BIBLIOGRAFIA

1. Couerbe JP. Du Cerveau, considéré sous le point de vue chimique et physiologique. *Annales de Chimie et de Physique*. 1834;56:160–193.
2. Bjorkhem I et al Brain Cholesterol: Long secret life behind a barrier. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:1-11.
3. Small GW et al. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer Association, and the American Geriatrics Society. *JAMA*. 1997;278:1363-1371.
4. Gang Yu et al. Nicastrin modulates presenilin mediated notch/glp-1 signal transduction and bAPP processing. *Nature* 2000;407;48.
5. Rice DP et al. Prevalence, costs, and treatment of Alzheimer's disease and related dementia. A managed care perspective. *Am. J. Manag. Care*. 2001;7:809-818.
6. Snipes G, Suter U. Cholesterol and Myelin. In: Bittman R, ed. *Cholesterol*. New York: Plenum Press; 1998.
7. Dietschy JM, Turley SD. Cholesterol metabolism in the brain. *Curr Opin Lipidol*. 2001;12:105–112.
8. Bjorkhem I, Lutjohann D, Diczfalussy U, Stahlé L, Ahlborg G, Wahren J. Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and

evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *J Lipid Res.* 1998;39:1594–1600.

9. Tint G, Batta A, Xu G, Shefer S, Honda A, Irons M, Elias E, Salen G. The Smith-Lemli-Opitz syndrome: A potentially fatal birth defect caused by a block in the last enzymatic step in cholesterol biosynthesis. In: Bittman R, ed. *Cholesterol*. New York: Plenum Press; 1998.

10. Jurevics H, Morell P. Cholesterol for synthesis of myelin is made locally, not imported into brain. *J Neurochem.* 1995;64:895–901.

11. Chobanian A, Hollander W. Body cholesterol metabolism in man. I. The equilibration of serum and tissue cholesterol. *J Clin Invest.* 1962;41:1732–1737.

12. Meaney S, Hassan M, Sakinis A, Lutjohann D, von Bergmann K, Wennmalm A, Diczfalussy U, Björkhem I. Evidence that the major oxysterols in human circulation originate from distinct pools of cholesterol: a stable isotope study. *J Lipid Res.* 2001;42:70–78.

13. Plotz E, Kabara J, Davis M, LeRoy G, Gould RG. Studies on the synthesis of cholesterol in the brain of the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 1968;101:534–538.

14. Pfrieger FW. Outsourcing in the brain: do neurons depend on cholesterol delivery by astrocytes? *Bioessays.* 2003;25:72–78.

15. Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A, Pfrieder FW. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 2001;294:1354–1357.
16. Pfrieder FW. Role of cholesterol in synapse formation and function. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1610:271–280.
17. Osono Y, Woollett LA, Herz J, Dietschy JM. Role of the low density lipoprotein receptor in the flux of cholesterol through the plasma and across the tissues of the mouse. *J Clin Invest*. 1995;95:1124–1132.
18. Masliah E, Mallory M, Ge N, Alford M, Veinbergs I, Roses AD. Neurodegeneration in the central nervous system of ApoE-deficient mice. *Exp Neurol*. 1995;136:107–122.
19. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993;261:921–923.
20. Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Foss D, Mahley RW. Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim Biophys Acta*. 1987;917:148–161.

21. 4. Crook, R., et al. 1998. A variant of Alzheimer's disease with spastic paraparesis and unusual plaques due to deletion of exon 9 of presenilin 1. *Nat. Med.* 4:452–455.
22. Kwok, J.B., et al. 1997. Two novel (M233T and R278T) presenilin-1 mutations in early-onset Alzheimer's disease pedigrees and preliminary evidence for association of presenilin-1 mutations with a novel phenotype. *Neuroreport.* 8:1537–1542.
23. Golde TE et al. Alzheimer disease therapy : can the amyloid cascade be halted ?. *JCI* 2003;111:11-18.
24. Phiel CJ et al. GSK-3 α regulates production of Alzheimer's disease amyloid- β peptides. *Nature* 2003;423:435-439.
25. De Stropper et al. *Neuron* 2003;38 :9-11.
26. Hofman A et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the rotterdam study. *Lancet* 1997;349:151-154.
27. Notkola I et al. Serum cholesterol, apolipoprotein E4, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology* 1998;17:14-20
28. Kivipelto M et al. Middle life vascular risk factors and late-life middle cognitive impairment. A population based study. *Neurology* 2001;56:1683-1689.
29. Zaldy Sy Tan et al. Plasma Total cholesterol level as a risk factor for Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 2003;163:1053-1057.

30. 25. Sparks DL. Interneuronal–amyloid immunoreactivity in the CNS. *Neurobiol Aging* 1996;17:291–299.
31. Refolo LM, Pappolla MA, Malester B, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiol Dis* 2000;7:321–331.
32. Fassbender K, Simons M, Bergmann C, et al. Simvastatin strongly reduces Alzheimer's disease A β 42 and A β 40 levels invitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:5856–5861.
33. Simons M, Keller P, De Strooper B, Beyreuther K, Dotti CG, Simons K. Cholesterol depletion inhibits the generation of β -amyloid in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:6460–6464.
34. Frears E, Stephens D, Walters C, Davies H, Austen B. The role of cholesterol in the biosynthesis of beta-amyloid. *Neuroreport* 1999;10:1699–1705.
35. Kojro E, Gimpl G, Lammich S, März W, Fahrenholz F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effects on the α -secretase ADAM 10. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:5815–5820.
36. Simons M, De Strooper B, Multhaup G, Tienari PJ, Dotti CG, Beyreuther K. Amyloidogenic processing of the human amyloid precursor protein in primary cultures of rat hippocampal neurons. *J Neurosci* 1996;16:899–908.

37. Simons M et al. Cholesterol and Alzheimer's disease. Is There a link?. *Neurology* 2001;57:1089-1093.
38. Launer LJ et al. Cholesterol and neuropathologic markers of AD. *Neurology* 2001;57:1447-1552.
39. Zuliani G. et al, Lipoprotein profile in older patients with vascular dementia and Alzheimer's disease, *BMC Geriatrics* 2001;1:5.
40. Kivipelto M et al. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* 2001;322:1447-1451.
41. Green RC, Jayakumar P, Benke K, Farrer L. Statin use is associated with reduced risk of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2002;23:273–274.
42. Hajjar I, Schumpert J, Hirth V, Wieland D, Eleazer GP. The impact of the use of statins on the prevalence of dementia and the progression of cognitive impairment. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002;57: M414–M418.
43. Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. *Lancet*. 2000;356:1627–1631.
44. Rockwood K, Kirkland S, Hogan DB, MacKnight C, Merry H, Verreault R, Wolfson C, McDowell I. Use of lipid-lowering agents, indication bias, and the risk of dementia in community-dwelling elderly people. *Arch Neurol*. 2002;59:223–227.

45. Rodriguez EG, Dodge HH, Birzescu MA, Stoehr GP, Ganguli M. Use of lipid-lowering drugs in older adults with and without dementia: a community-based epidemiological study. *J Am Geriatr Soc.* 2002;50: 1852–1856.
46. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol.* 2000;57: 1439–1443.
47. Yaffe K, Barrett-Connor E, Lin F, Grady D. Serum lipoprotein levels, statin use, and cognitive function in older women. *Arch Neurol.* 2002; 59:378–384.
48. Etminan M, Gill S, Samii A. The role of lipid-lowering drugs cognitive function: a meta-analysis of observational studies. *Pharmacotherapy.* 2003;23:726–730.
49. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002;360:7–22.
50. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen EL, Buckley BM, SM, Ford I, Gaw A, Hyland M, Jukema JW, Kamper AM, Macfarlane PW, Meinders AE, Norrie J, Packard CJ, Perry IJ, Stott DJ, Sweeney Twomey C, Westendorp RG. Pravastatin in elderly individuals at vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. 2002;360:1623–1630.

51. Fassbender K. et al. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease β -amyloid peptides A β -42 e A β -40 in vitro and in vivo. PNAS 2001;98:5856-5861.
52. Simons M et al. Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease : a 26 week randomized, placebo controlled double blind trial. Ann Neurol 2002;52:346-350.
53. Sparks DL et al. A position paper : based on observational data indicating an increased rate of altered blood chemistry requiring withdrawal from the Alzheimer's disease cholesterol lowering treatment team (ADCLT). J Mol Neurosci 2003;20:407-410.