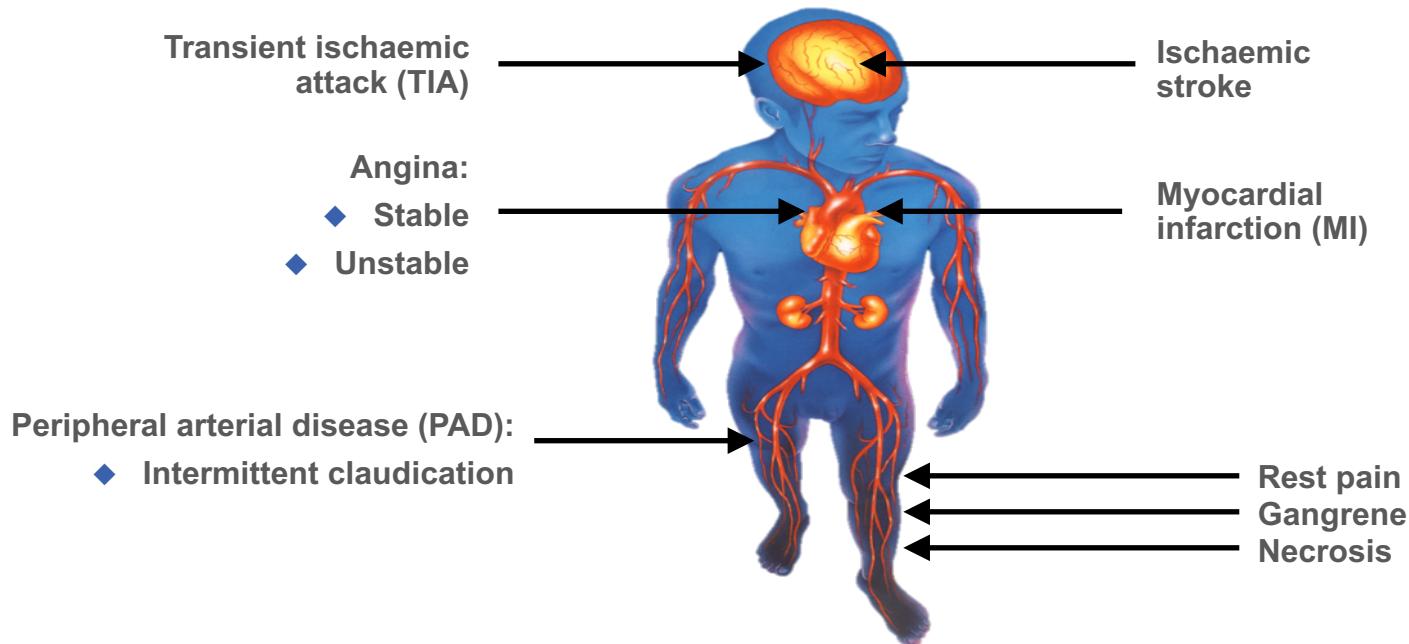


Ruolo LDL nella patogenesi delle malattie cardiovascolari su base aterosclerotica

Dott.ssa Elena Iotti
SOD malattie aterotrombotiche
Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi

Atherosclerosis Is a Generalized Disease with Multiple Manifestations



Adapted from Drouet L, *Cerebrovasc Dis* 2002;13(suppl 1):1–6

Atherosclerotic Plaque Development: From Healthy Vessel to Clinical CVD

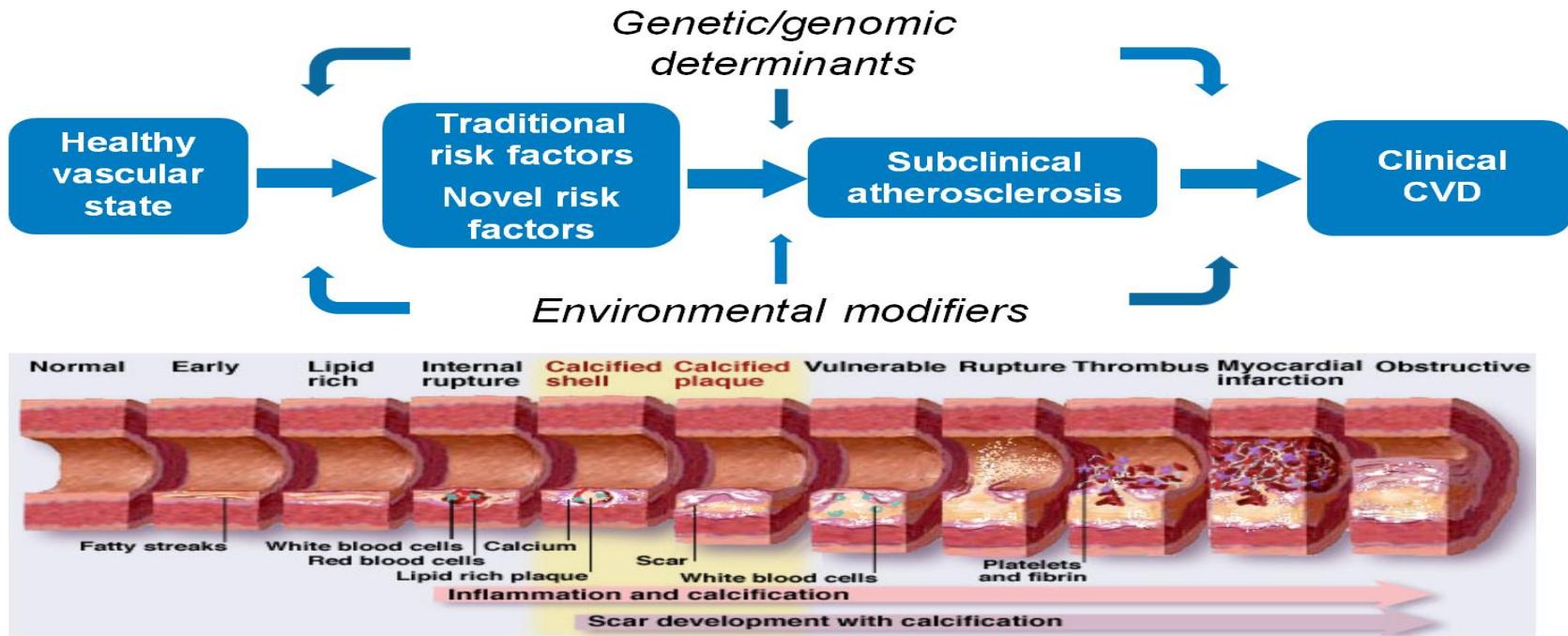
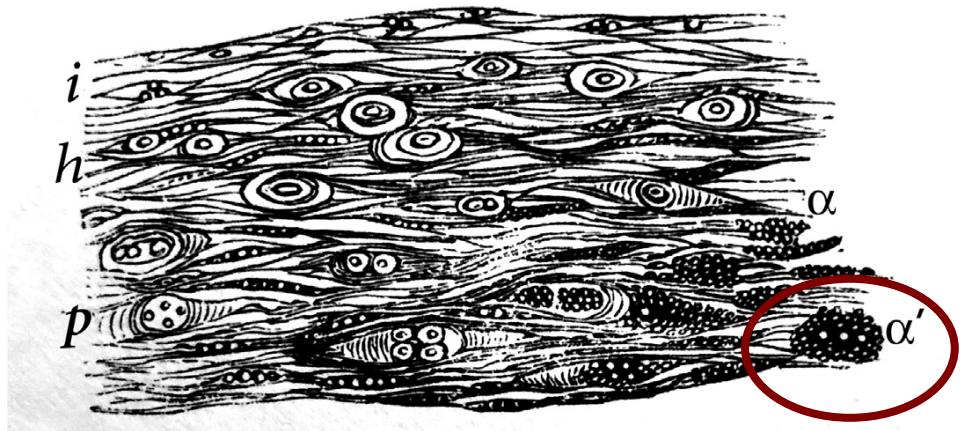


Figure adapted from Pepine CJ. Am J Cardiol 1998;82(10 Suppl 1):S23–27.

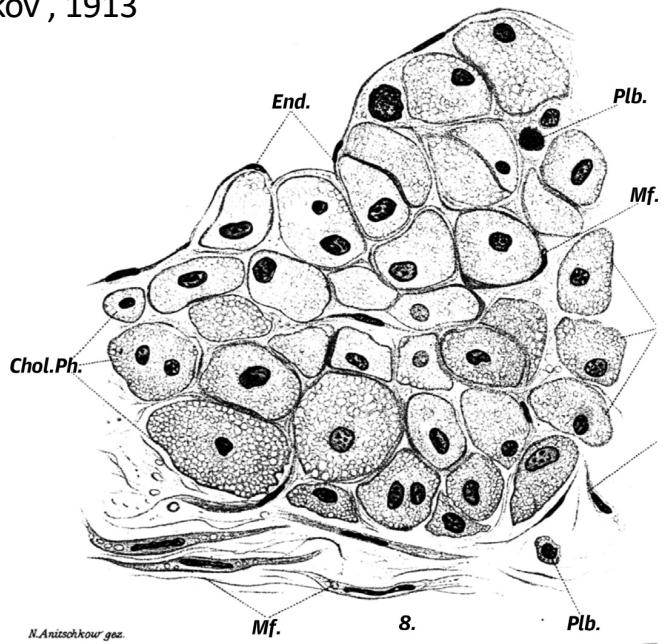
Atherosclerosis: a lipid storage disease

The atheromatous plaque according to Virchow,
1858

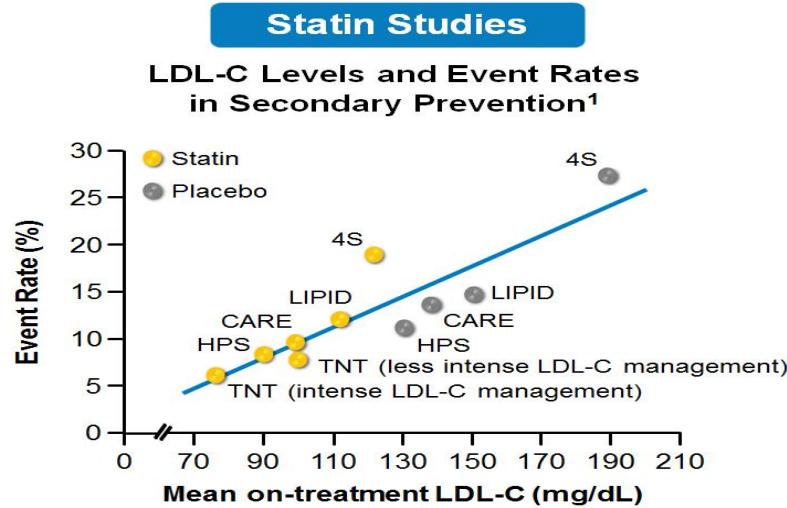


Libby P, Hanson GKH. JACC 2019; 74: 1594

A Foam cell lesion in a cholesterol-fed rabbit;
Anitchkov , 1913



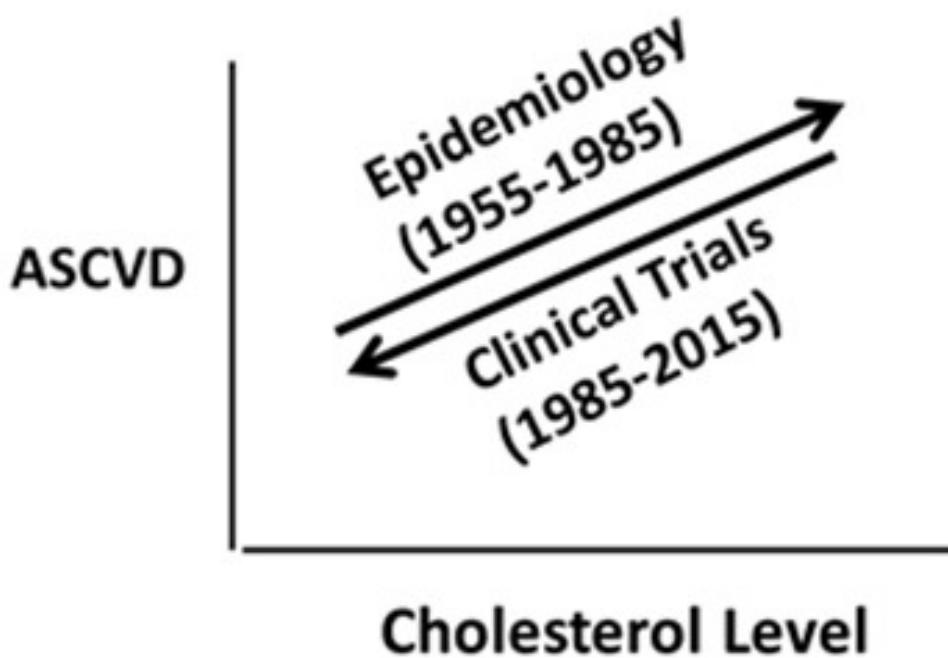
Linear Relationship Between LDL-C, Event Rate and Atherosclerosis Progression



LDL-C is a key modifiable risk factor for CVD

From N Engl J Med, LaRosa JC, et al., Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease, 352:1425–35. Copyright © (2005) Massachusetts Medical Society. Reprinted with permission from Massachusetts Medical Society

Cholesterol Hypothesis

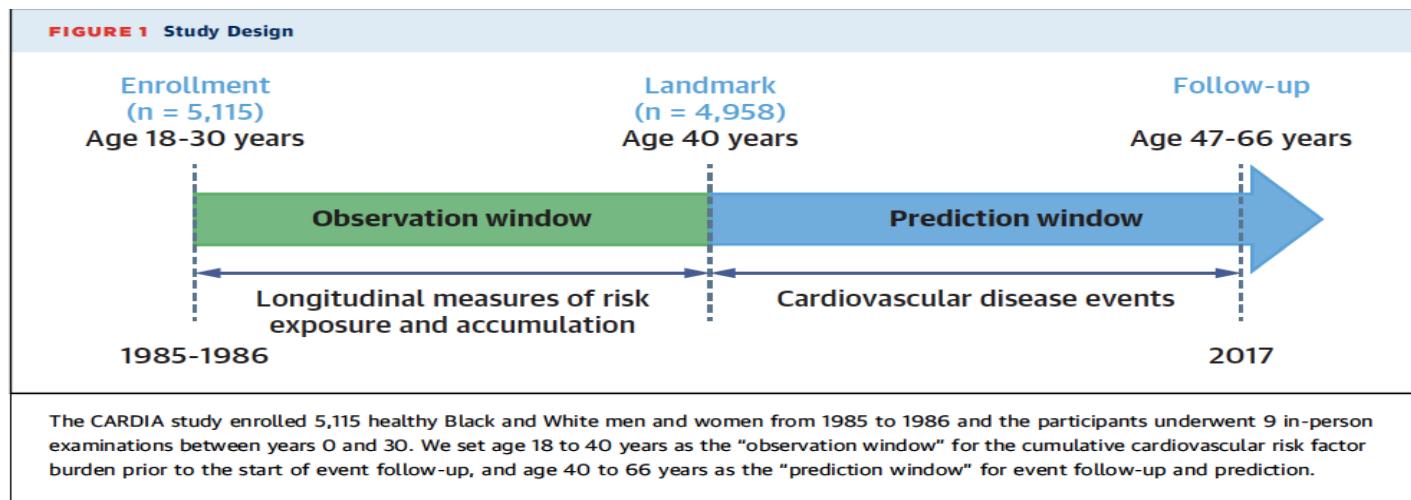


<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305897/>

Time Course of LDL Cholesterol Exposure and Cardiovascular Disease Event Risk



Michael J. Domanski, MD,^a Xin Tian, PhD,^b Colin O. Wu, PhD,^b Jared P. Reis, PhD,^c Amit K. Dey, MD,^d Yuan Gu, PhD,^e Lihui Zhao, PhD,^f Sejong Bae, PhD,^g Kiang Liu, PhD,^f Ahmed A. Hasan, MD, PhD,^c David Zimrin, MD,^a Michael E. Farkouh, MD, MSc,^h Charles C. Hong, MD,^a Donald M. Lloyd-Jones, MD, ScM,^f Valentin Fuster, MD, PhDⁱ



(J Am Coll Cardiol 2020;76:1507–16) © 2020 by the American College of Cardiology Foundation.

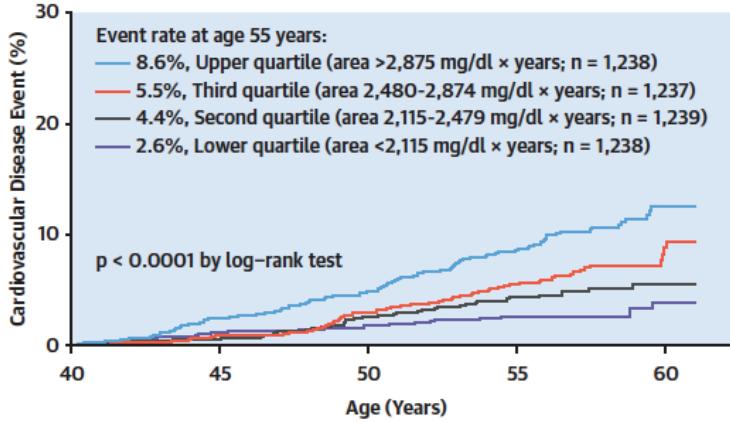
Time Course of LDL Cholesterol Exposure and Cardiovascular Disease Event Risk



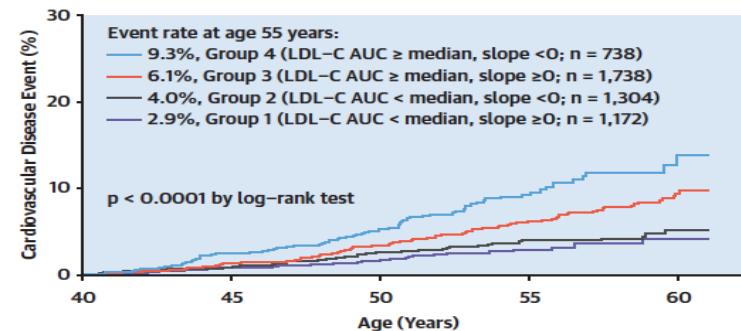
Michael J. Domanski, MD,^a Xin Tian, PhD,^b Colin O. Wu, PhD,^b Jared P. Reis, PhD,^c Amit K. Dey, MD,^d Yuan Gu, PhD,^e Lihui Zhao, PhD,^f Sejong Bae, PhD,^g Kiang Liu, PhD,^f Ahmed A. Hasan, MD, PhD,^c David Zimrin, MD,^a Michael E. Farkouh, MD, MSc,^h Charles C. Hong, MD,^a Donald M. Lloyd-Jones, MD, ScM,^f Valentin Fuster, MD, PhDⁱ

CENTRAL ILLUSTRATION Kaplan-Meier Curves of Incident Cardiovascular Disease Event Rates

A Risk According to LDL-C AUC Only Subgroups



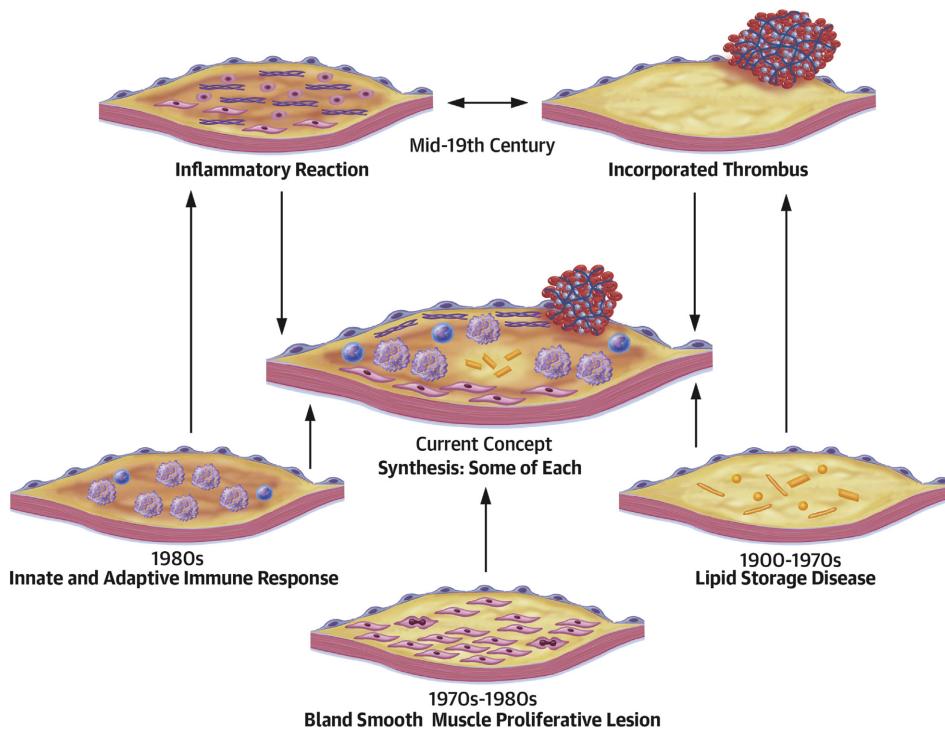
B Risk According to LDL-C AUC and Slope Subgroups



Domanski, M.J. et al. J Am Coll Cardiol. 2020;76(13):1507-16.

(A) Incident event rates following the landmark age stratified by area under the curve (AUC) of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) versus age from 18 to 40 years. Increased area was associated with increased risk of an incident event following the landmark age of 40 years. (B) Incident event rates following the landmark age stratified by both AUC and time course (slope) of LDL-C versus age from 18 to 40 years. The risk of an incident event depended on both the cumulative exposure to LDL-C, measured by area under LDL-C versus age curve, and the time course of area accumulation.

Atherosclerosis: Evolution of concepts of its pathogenesis



Libby, P. et al. J Am Coll Cardiol. 2019;74(12):1594-607.

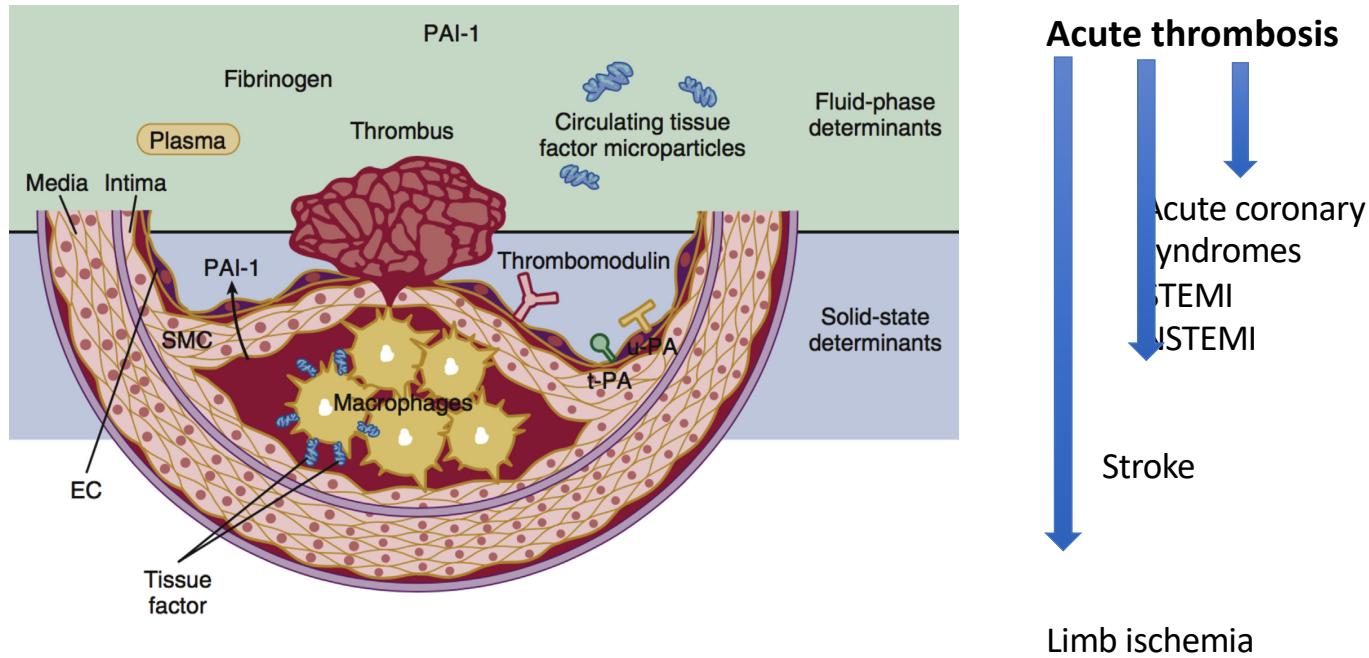
Few dispute today the causal role of LDL in human atherogenesis

A long-lasting exposure to higher concentration of LDL furnishes a foundation for this disease

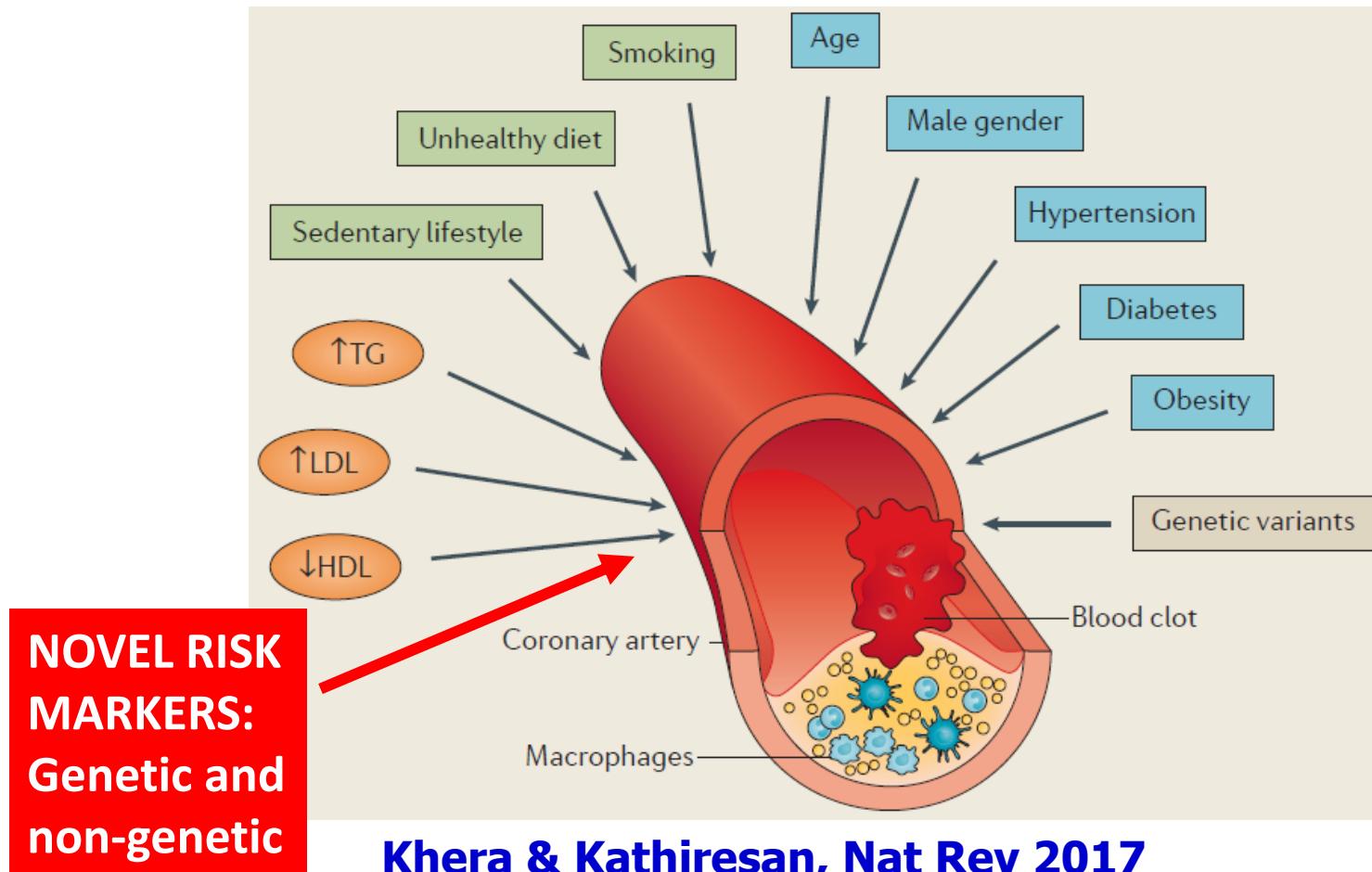
Endothelial dysfunction, inflammation, SMC proliferation & thrombosis play a key role in progression and instability of atherosclerotic plaques

LDL particles correlate with inflammatory biomarkers and can activate both innate and adaptive immunity

Acute Thrombosis on a vulnerable atherosclerotic plaque



The pathophysiology of coronary artery disease



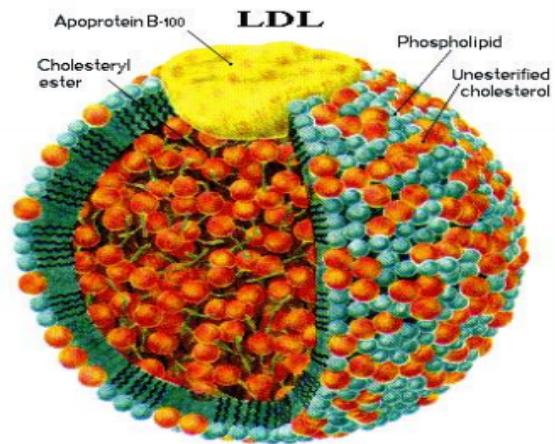
TRASPORTO dei lipidi nel sangue

I lipidi vengono trasportati nel sangue sottoforma di aggregati micellari lipoproteici (**LIPOPROTEINE**) capaci di formare sospensioni stabili.

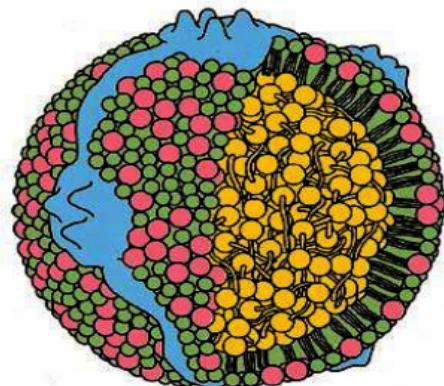
Tali formazioni risultano costituite dall'aggregazione di detti lipidi con **PROTEINE IDROFILICHE (APOLIPOPROTEINE)**, mediata da forze non covalenti.

L'assenza di legami covalenti consente lo scambio dei costituenti lipidici e proteici fra le varie lipoproteine e fra lipoproteine e membrane cellulari.

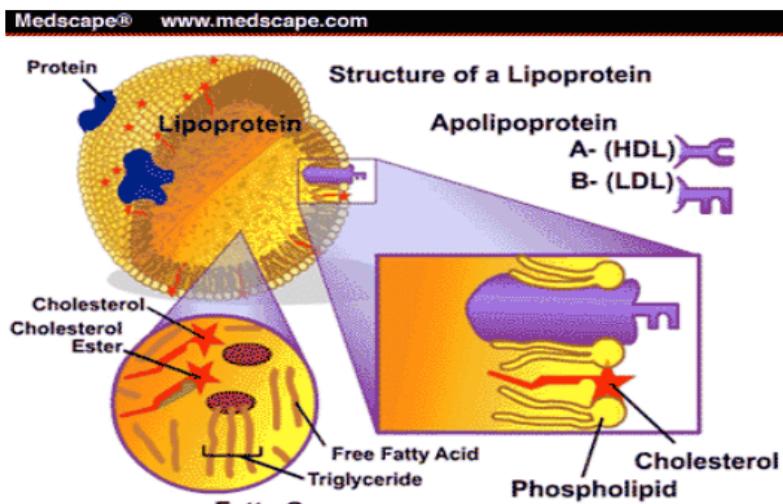
Le principali lipoproteine del plasma hanno struttura **GLOBULARE** nella quale apoproteine, fosfolipidi e colesterolo formano un involucro di spessore molecolare (monolayer) entro il quale sono racchiusi, segregati dall'ambiente esterno acquoso, i lipidi idrofobici: trigliceridii e colesterolo esterificato.



Lipoproteine

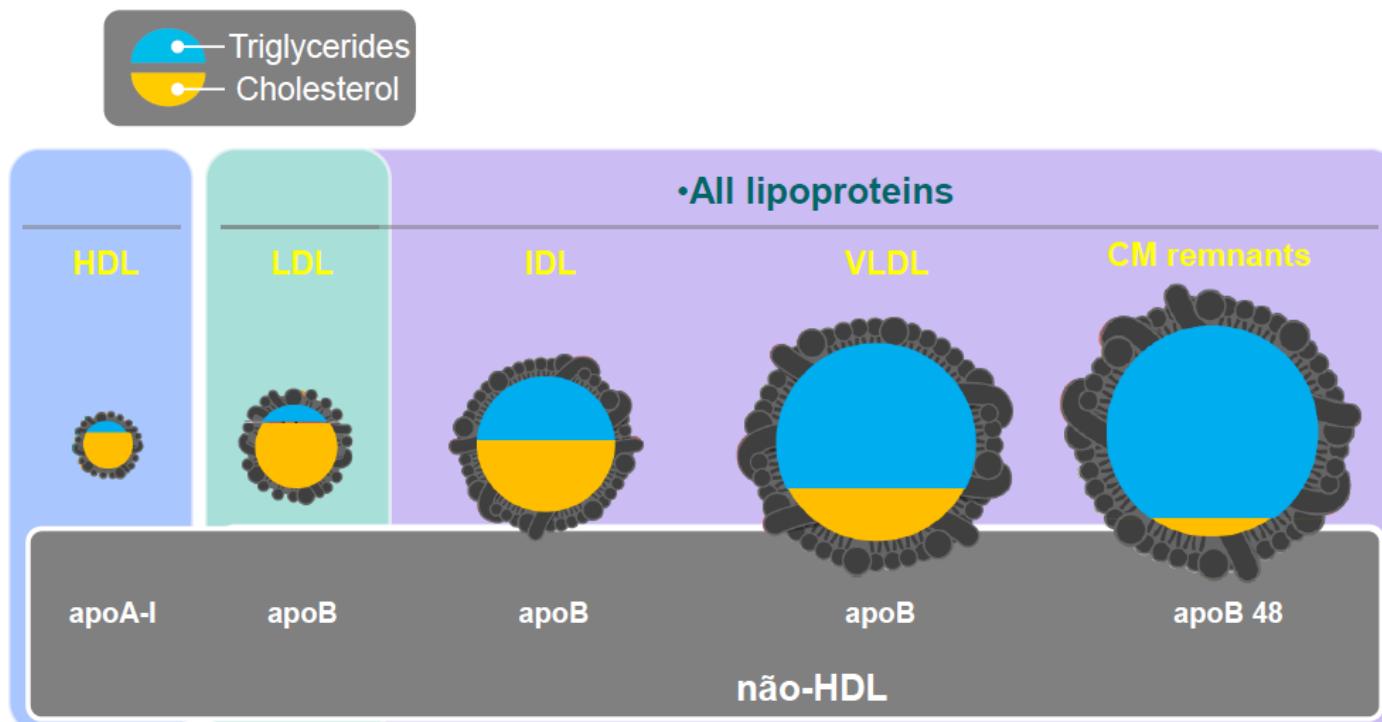


- Unesterified cholesterol
- Phospholipid
- Cholesteryl ester
- Protein B-100



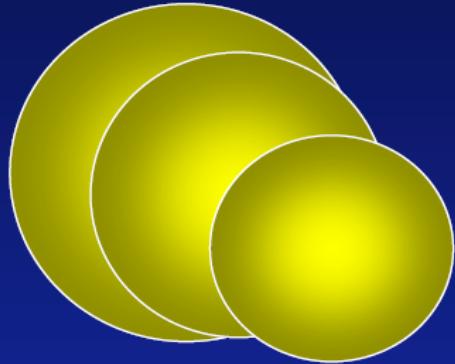
Le lipoproteine (o lipoprotidi) sono macromolecole derivanti dalla combinazione di una proteina con lipidi di varia natura: colesterolo, esteri del colesterolo, fosfolipidi e trigliceridi

What is non-HDL cholesterol ?

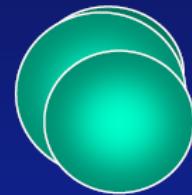


$$\text{non-HDL-C} = \text{Total Cholesterol total} - \text{HDL-C}$$

Lipoprotein fractions in plasma



Chylomicrons,
VLDLs, and their
catabolic remnants



LDLs



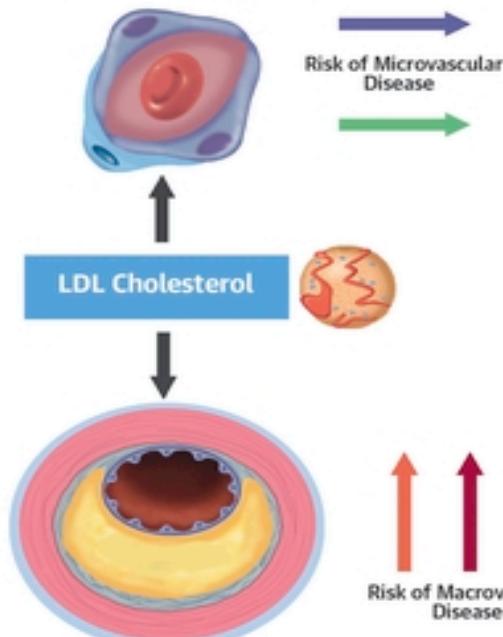
HDLs

Pro-atherogenic

Anti-atherogenic

CENTRAL ILLUSTRATION: Impact of Low-Density Lipoprotein Cholesterol on Microvascular Versus Macrovascular Disease

Small arterioles and capillaries without intima, less hydrostatic pressure: No atherosclerosis



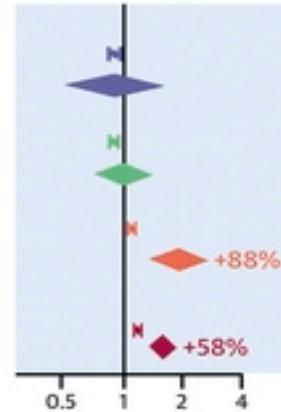
Copenhagen cohorts, observational
Meta-analysis of causal estimates

Retinopathy

Peripheral Neuropathy

Peripheral Arterial Disease

Myocardial Infarction



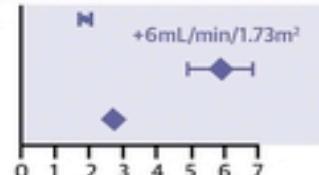
Risk Ratio Per 1 mmol/L (38.6 mg/dL)
Higher LDL Cholesterol (95% CI)

Estimated Glomerular Filtration Rate

Copenhagen cohorts, observational

Copenhagen cohorts, causal

Meta-analysis of randomized statin trials



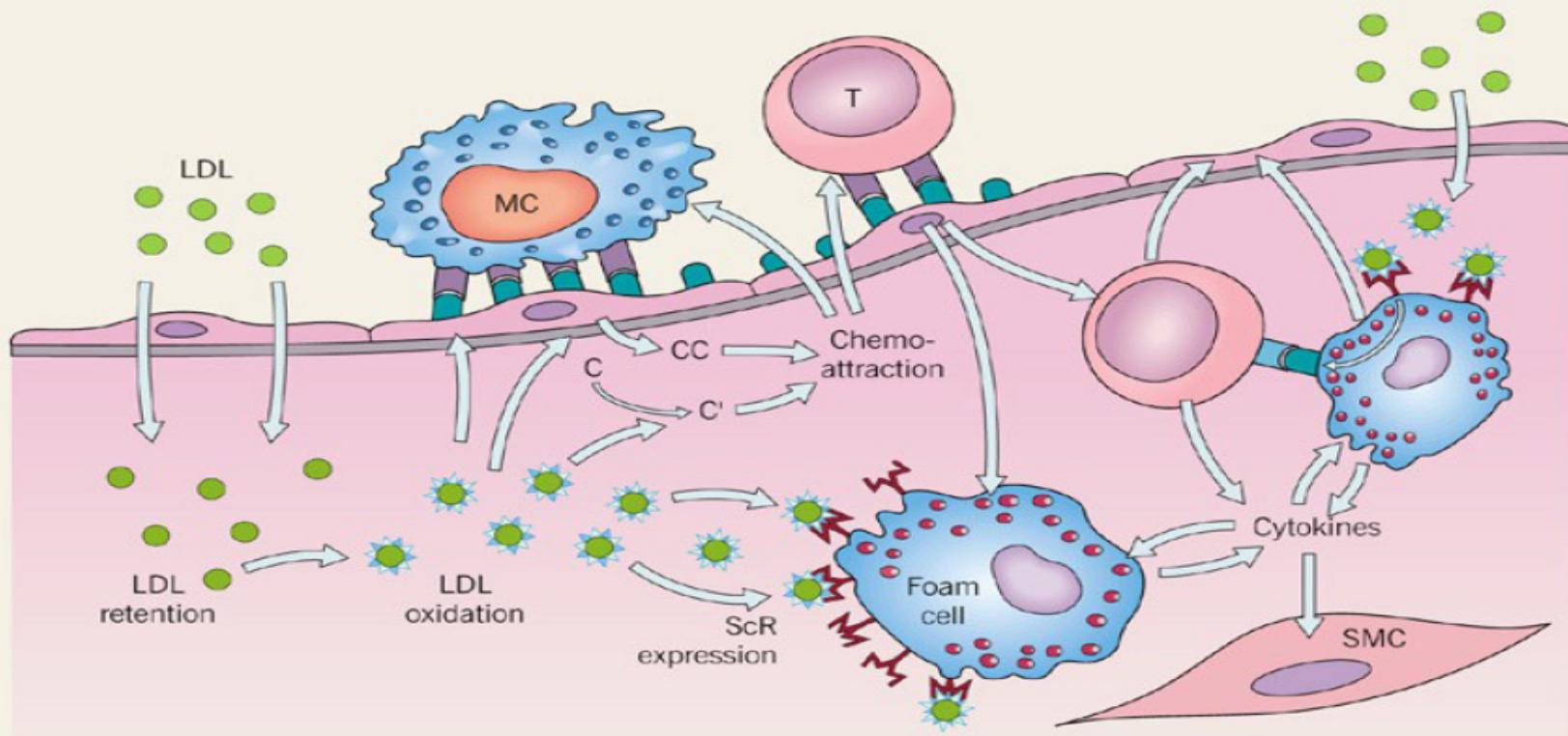
Change in estimated glomerular filtration
rate per 1 mmol/L (38.6 mg/dL) Lower LDL
Cholesterol (95% CI)

Emanuelsson, F. et al. J Am Coll Cardiol. 2019;74(11):1465-76.



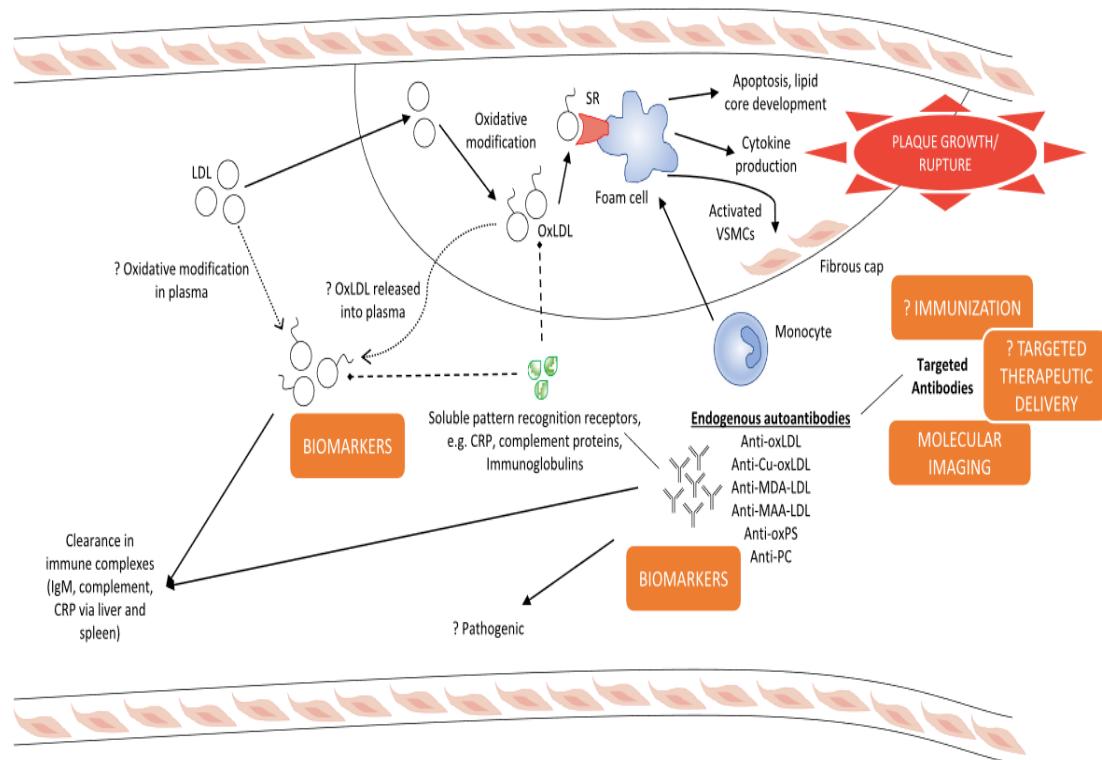
JACC
JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY

HYPOTHESIS FOR THE INDUCTION OF ATHEROSCLEROSIS

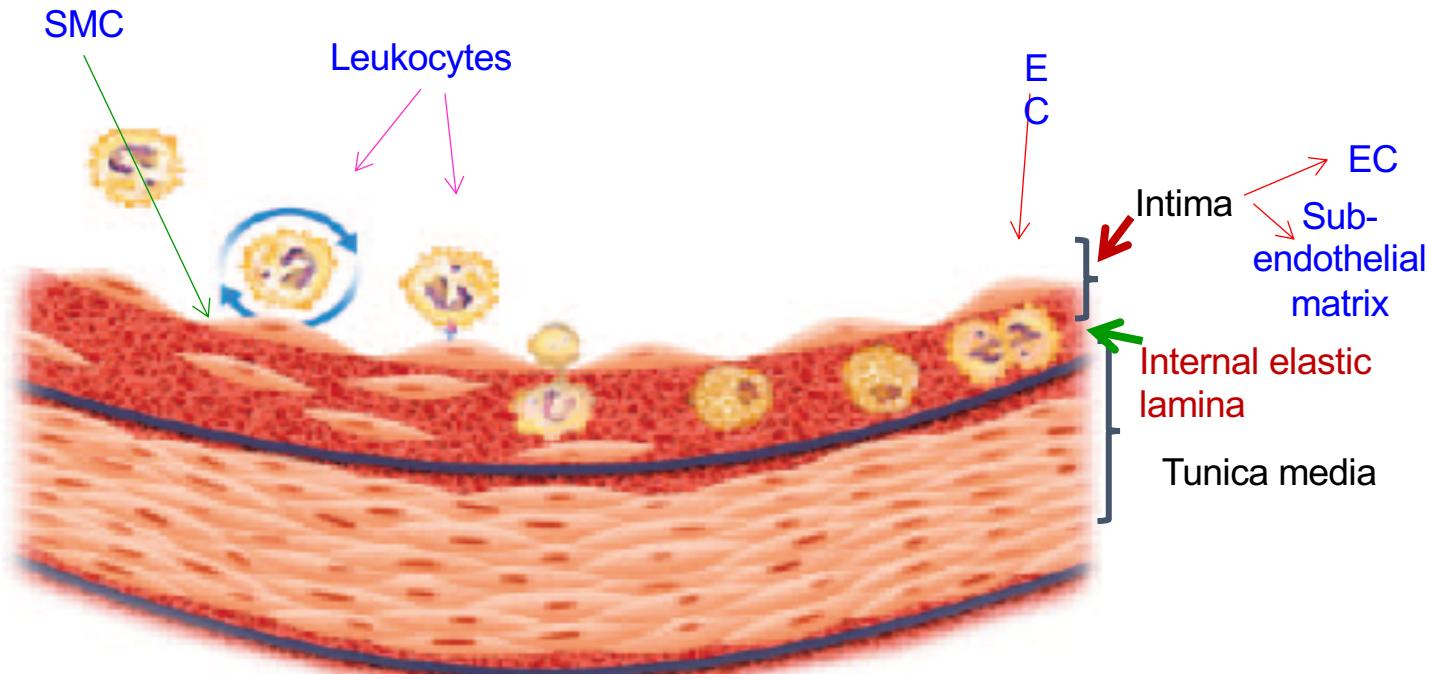


Schematic summary of the role and potential clinical uses of oxLDL and anti-oxLDL antibodies in atherosclerosis

Le LDL nello spazio subendoteliale delle pareti arteriose subiscono una modificaione ossidativa per formare oxLDL, un gruppo eterogeneo che comprende vari epitopi ossidativi specifici (OSE). Questi OSE possono essere riconosciuti dal sistema immunitario umorale. I monociti che sono migrati nello spazio subendoteliale, subiscono la trasformazione in macrofagi, che quindi assorbono oxLDL tramite recettori scavenger e diventano cellule schiumose. Le cellule schiumose svolgono quindi funzioni pro-infiammatorie e contribuiscono alla crescita della placca.

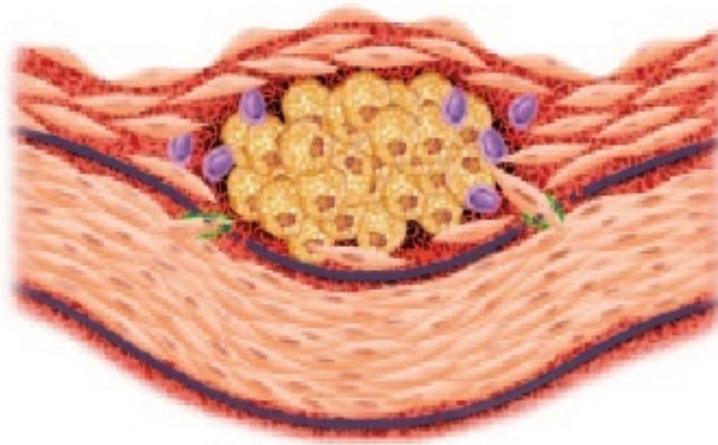


Initiation of atherosclerosis



When the endothelium becomes inflamed it expresses adhesion molecules that bind cognate ligands on leukocytes. Selectins mediate a loose rolling interaction of leukocytes with the inflammatory activated endothelial cells. Integrins mediate firm attachment. Chemokines expressed within atheroma provide a chemotactic stimulus to the adherent leukocytes, directing their diapedesis and migration into the intima, where they take residence and divide.

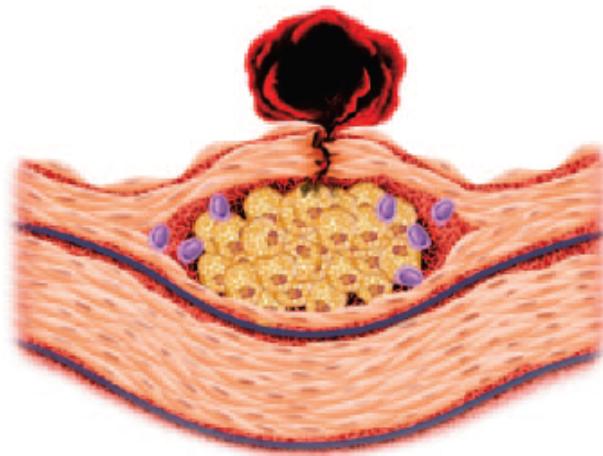
Progression of atherosclerosis



Macrophages augment the expression of scavenger receptors in response to inflammatory mediators, transforming them into lipid-laden foam cells following the endocytosis of modified lipoprotein particles.

Macrophage-derived foam cells drive lesion progression by secreting proinflammatory cytokines. T lymphocytes join macrophages in the intima and direct adaptive immune responses. These leukocytes, as well as endothelial cells, secrete additional cytokines and growth factors that promote the migration and proliferation of SMCs. In response to inflammatory stimulation, vascular SMCs express specialized enzymes that can degrade elastin and collagen, allowing their penetration into the expanding lesion.

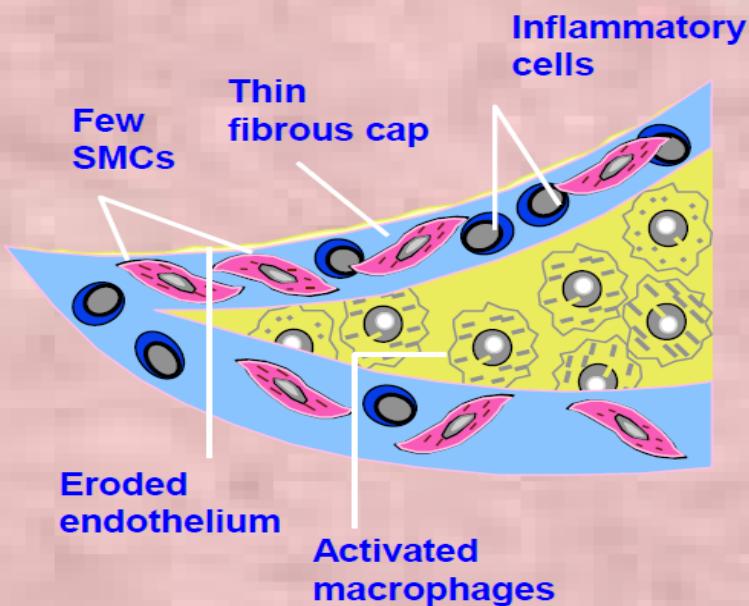
Thrombotic complication of atherosclerosis



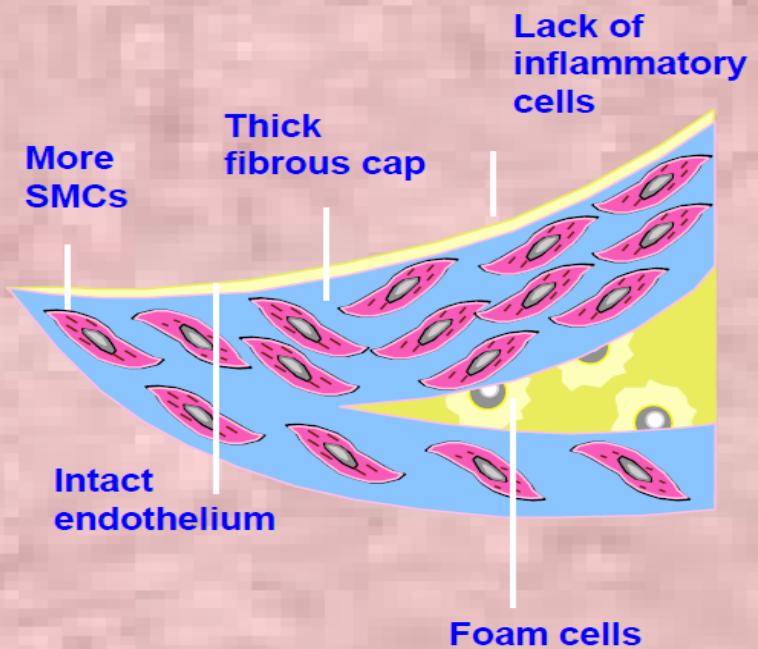
Inflammatory mediators can inhibit collagen synthesis and evoke the expression of collagenases by macrophage foam cells within the intima.

This imbalance diminishes the collagen content of the fibrous cap, rendering it weak and rupture-prone. In parallel, crosstalk between T lymphocytes and other cell types present within lesions heightens the expression of the potent procoagulant tissue factor. Thus, when the fibrous cap ruptures, as illustrated in this diagram, tissue factor induced by inflammatory signaling triggers the thrombus that causes most acute complications of atherosclerosis. Clinically, this may translate into an acute coronary syndrome.

• Unstable

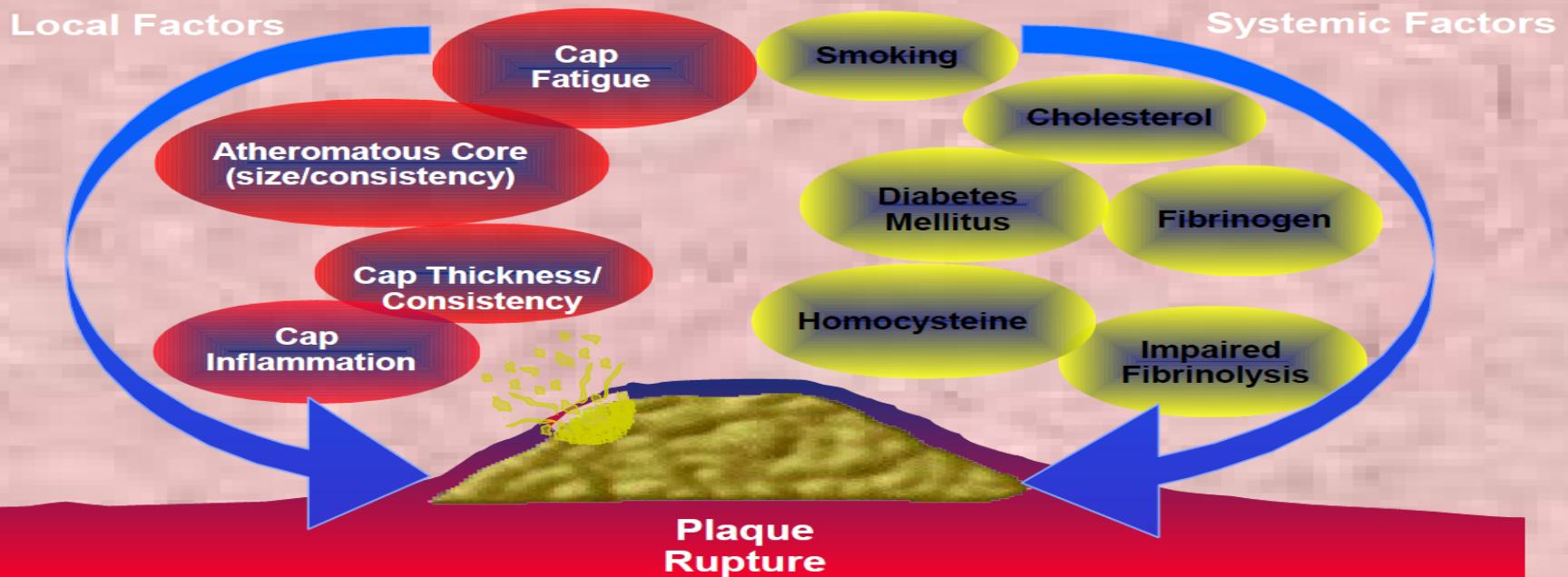


Stable



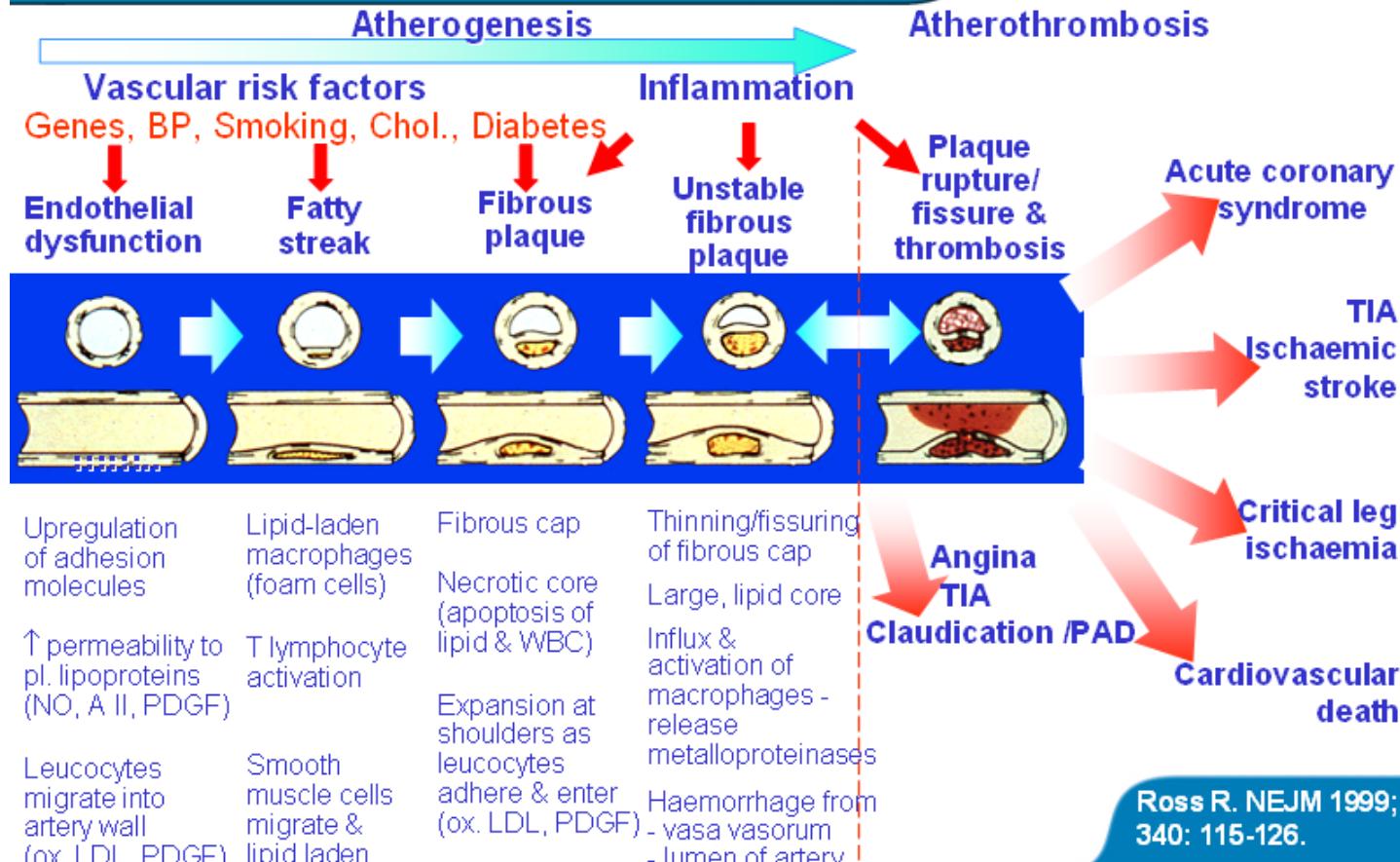
Libby P. Circulation. 1995;91:2844-2850.

Risk Factors for Plaque Rupture

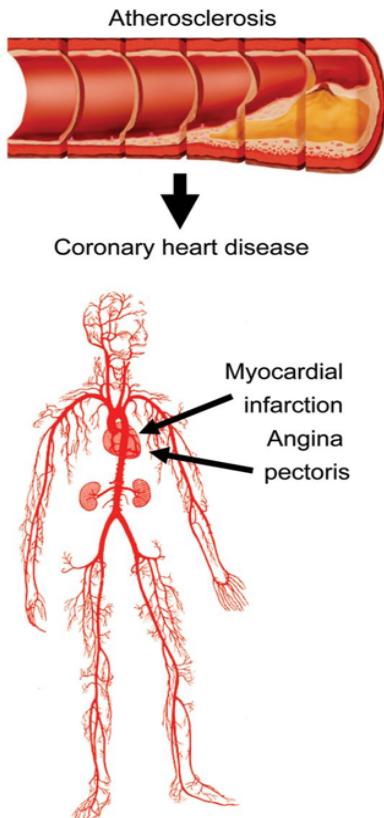
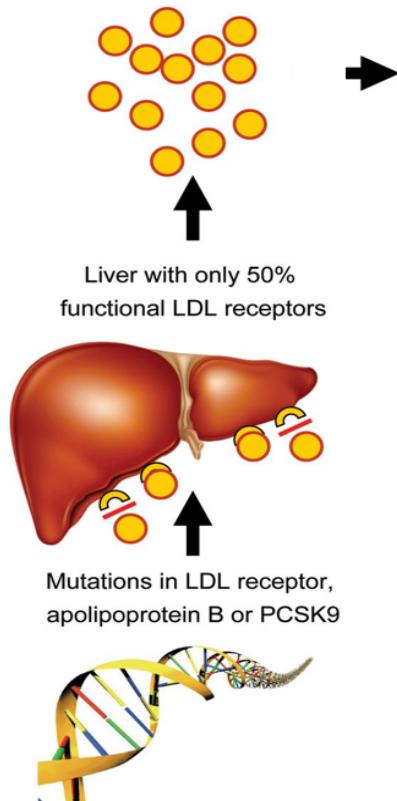


Fuster V, et al. *N Engl J Med.* 1992;326:310-318.
Falk E, et al. *Circulation.* 1995;92:657-671.

Current understanding of causes/mediators of atherothrombosis



ATEROSCLEROSI e GENETICA



Clinical Manifestation:

- tendon xanthomata
- xanthelasma
- arcus corneae

Associated with significant mortality and morbidity

Cardiovascular disease in:

- 5% by age of 30**
- 20% by age of 40**
- 60% by age of 50**
- 80% by age of 60**

Nordestgaard et al., Eur Heart J 2013

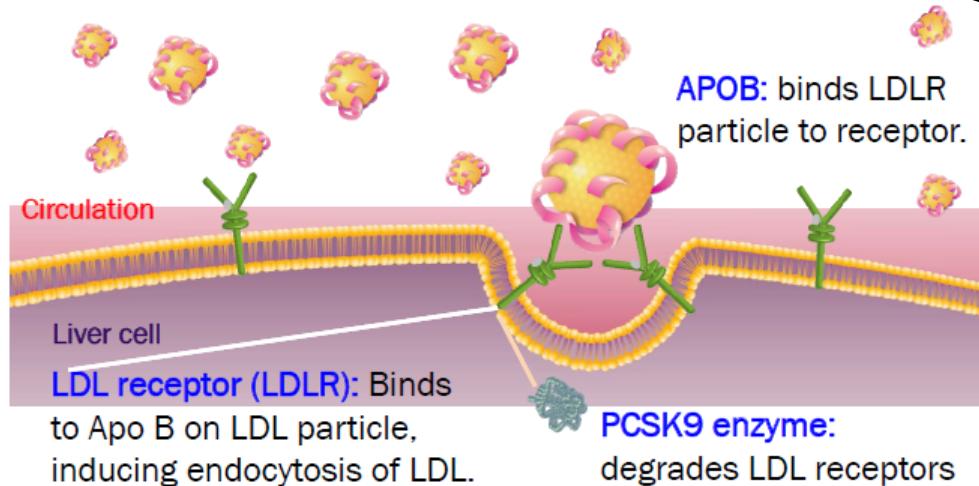
Fisiopatología & Genetics

GENE	Chr	# Causal Mutations	% of FH cases
<i>LDLR</i> (LDL Receptor)	Chr 19	> 1000	60-80%
<i>APOB</i> (Apolipoprotein B)	Chr 2	Handful (esp. Arg3500Gln or R3500Q)	1-10%
<i>PCSK9</i> (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)	Chr 1	Handful	0-3%
Unknown			20-40%

Recessive forms <1%
(*LDLRAP1*)

Other major genes?

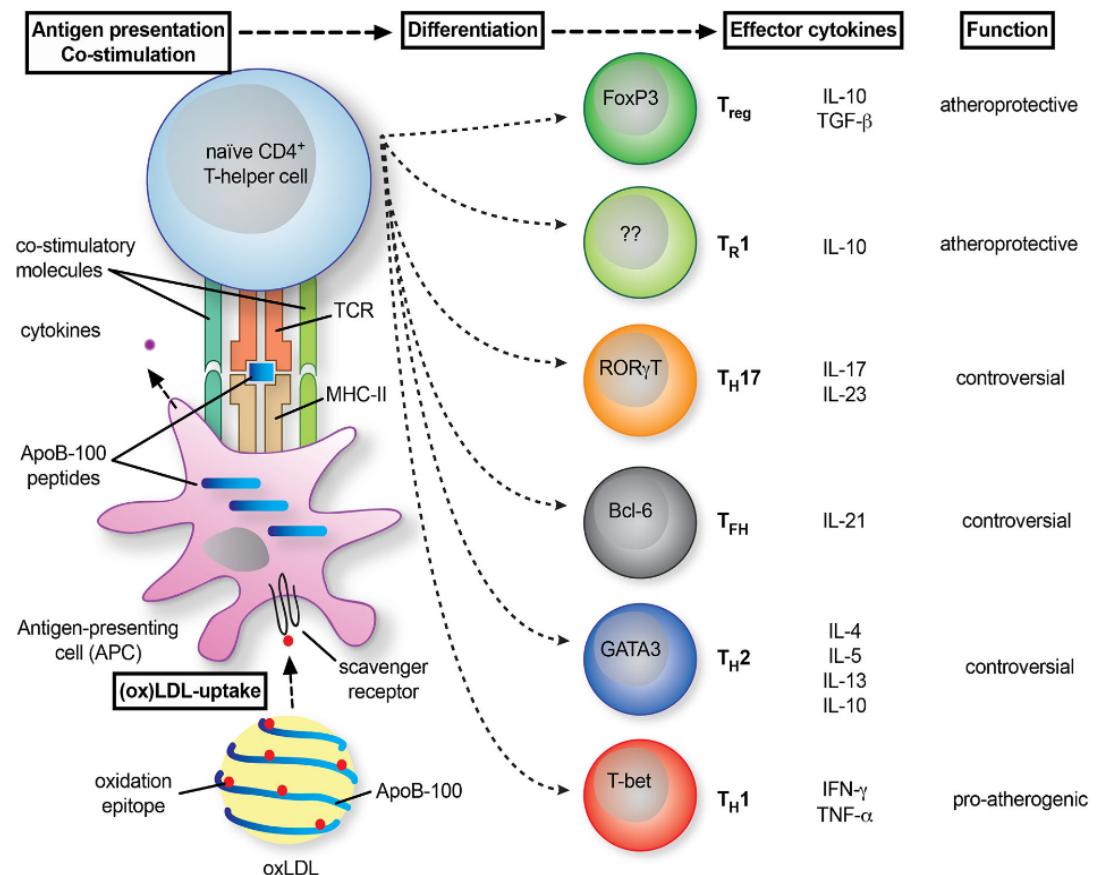
Polygenic forms



Knowles 2013

T cell polarization in atherosclerosis

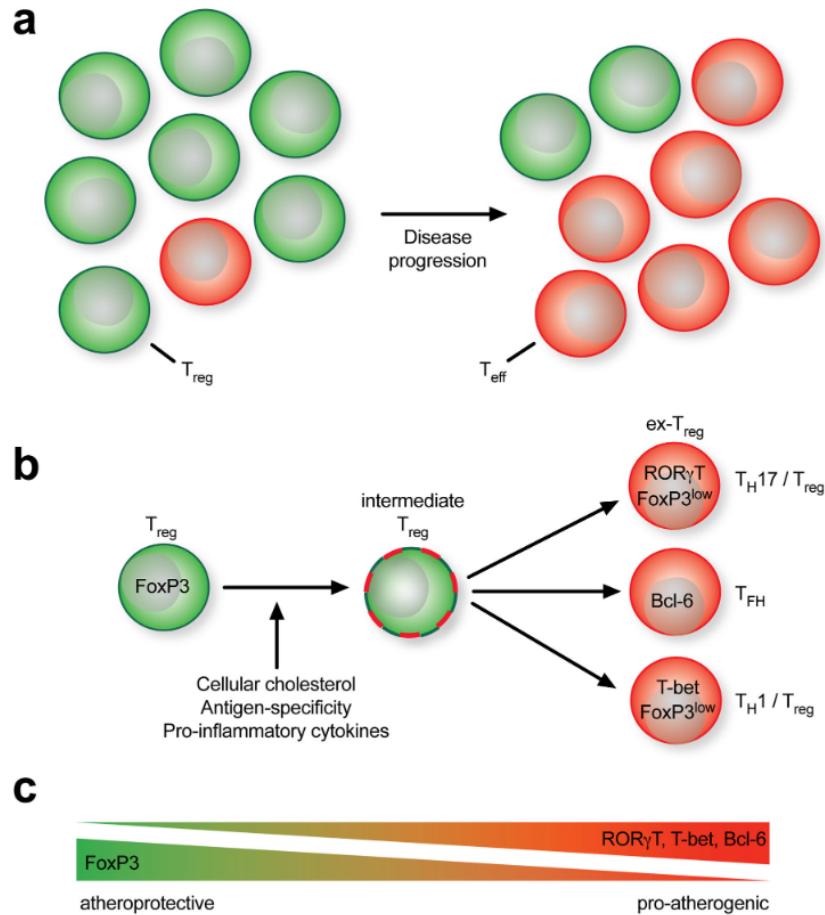
Le cellule T helper (TH) naïve acquisiscono il fenotipo completo di una cellula T effettrice nella placca dopo la presentazione di peptidi antigenici da ApoB da parte delle cellule presentanti l'antigene (APC). Come risultato di segnali co-stimolatori e citochine secrete dall'APC, le cellule T esprimono fattori di trascrizione che esprimono citochine specifiche che possono agire sia in modo ateroprotettivo che pro-aterogenico.



Decline of protective T-regulatory cells (Treg) in the course of atherosclerosis

Con il progredire della malattia, il pool di cellule T antigene-specifiche dominate da Treg viene sopraffatto dalle cellule T effettive (Teff) con una funzione presumibilmente pro-aterogenica. Queste osservazioni hanno costruito il concetto di una crescente sostituzione dell'immunità (atero) protettiva con una risposta pro-aterogena.

I Treg esercitano le loro proprietà ateroprotettive secernendo la citochina antinfiammatoria IL-1070, TGF- β 71 stabilizzante la placca e sopprimendo la proliferazione delle cellule T-effettive pro-infiammatorie.

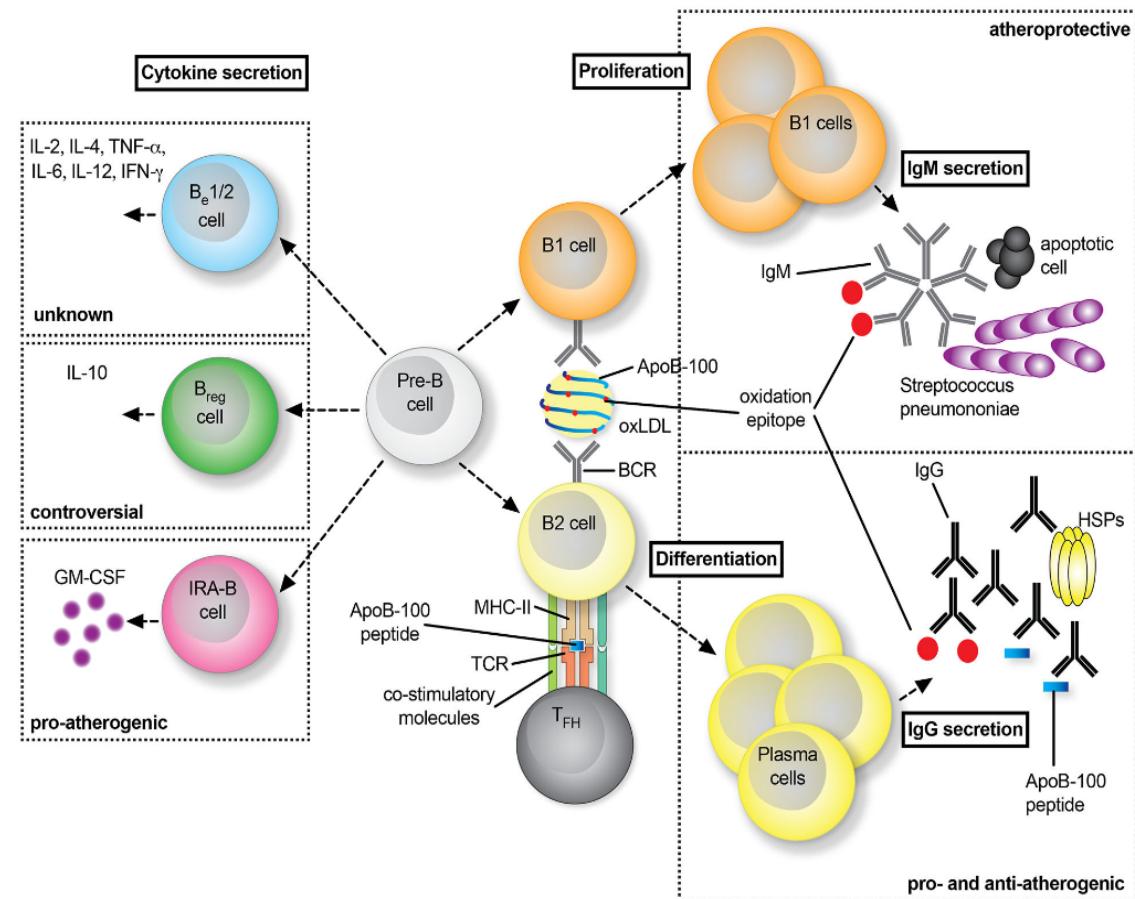


Distinct role of B cells in atherosclerosis

Le cellule B si trasformano in cellule B1 o B2. Le **cellule B1** riconoscono gli epitopi sulle particelle LDL e oxLDL, che porta alla loro attivazione ed espressione di anticorpi IgM.

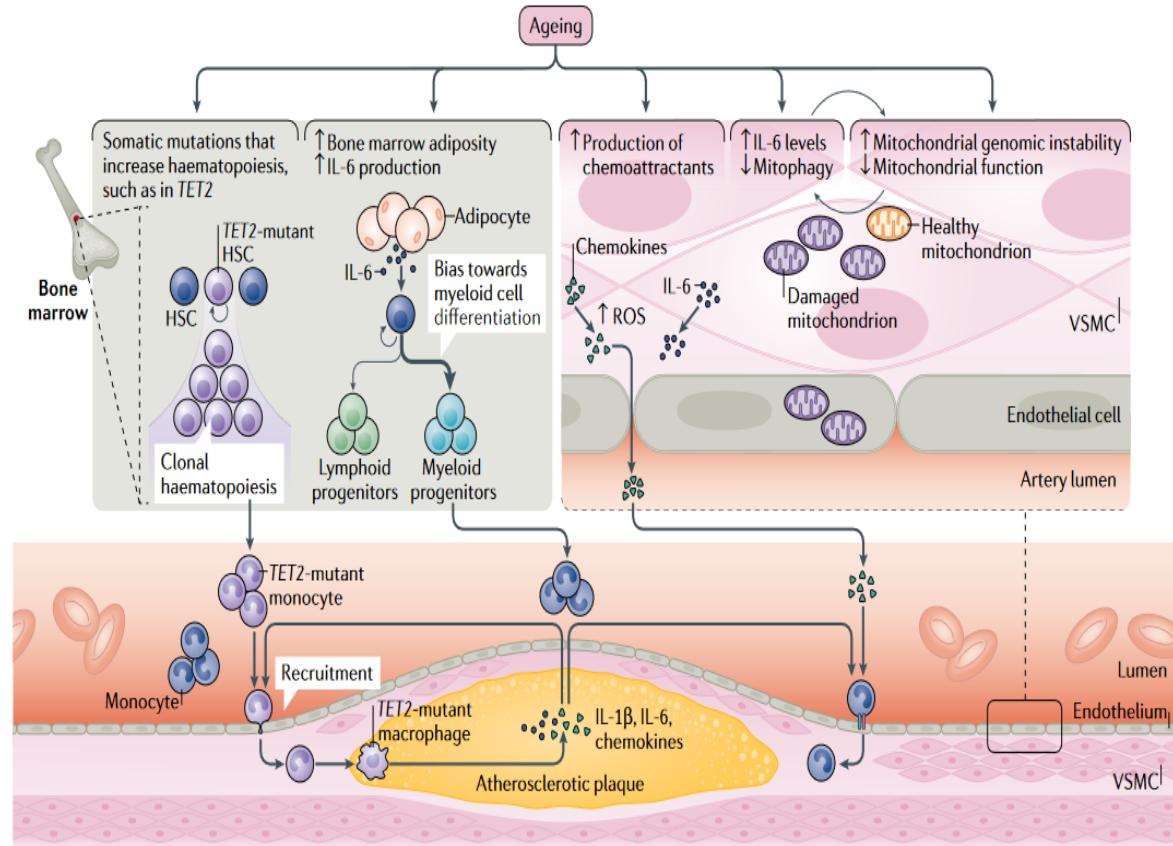
Interferenza con la funzionalità B1 aggrava l'aterosclerosi.

Le **cellule B2** richiedono la co-stimolazione da parte delle cellule TFH per differenziarsi completamente in plasmacellule che esprimono anticorpi IgG ad alta affinità contro antigeni aterogenici, come ApoB, oxLDL o calore proteine d'urto (HSP). La neutralizzazione delle cellule B2 è ateroprotettiva, mentre il ruolo degli anticorpi IgG rimane controverso con le funzioni pro e anti-aterogeniche riportate.



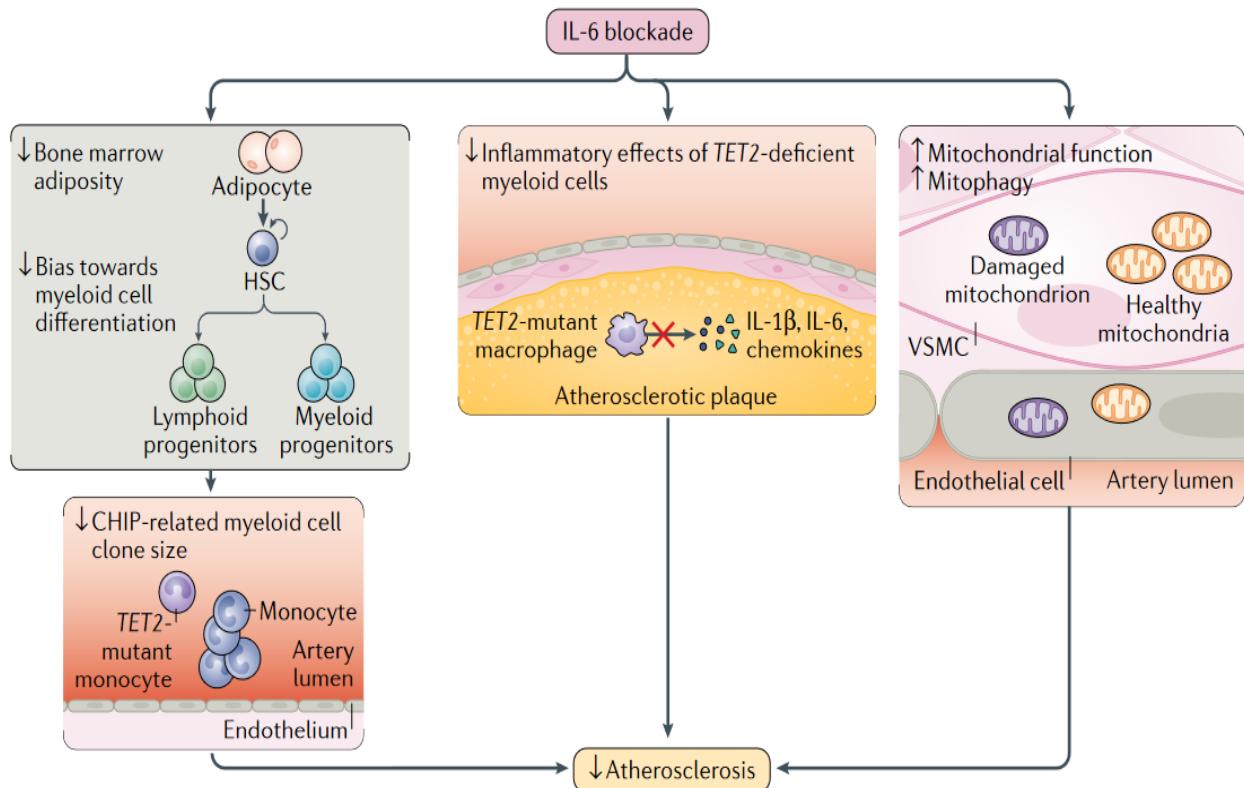
Ageing-related processes that promote atherogenesis: IL-6 as a potential shared pathway

L'invecchiamento promuove lo sviluppo e la progressione dell'aterosclerosi attraverso diversi meccanismi, che potrebbero essere correlati agli aumenti indotti dall'età dei livelli di IL-6 circolanti e intracellulari può anche avere effetti pro-aterogenici direttamente sul sistema vascolare mediato da un aumento della produzione da parte delle cellule muscolari lisce vascolari (VSMC), dall'instabilità genomica mitocondriale e da un declino della funzione mitocondriale nel sistema vascolare.



IL-6 as a potential therapeutic target in age-related atherosclerosis

L'IL-6 è sovraespressa in più tessuti che hanno ruoli importanti nell'aumento dell'aterogenesi con l'invecchiamento. Pertanto, il blocco dell'IL-6 potrebbe essere una strategia terapeutica efficace per ridurre lo sviluppo e la progressione dell'aterosclerosi durante l'invecchiamento (studio CANTOS)



Review

Vitamin D and Its Role in the Lipid Metabolism and the Development of Atherosclerosis

Andrei Mihai Surdu ^{1,*}, Oana Pinzaroiu ², Dana-Mihaela Ciobanu ³, Alina-Gabriela Negru ⁴, Simona-Sorana Căinap ⁵, Cecilia Lazea ⁶, Daniela Iacob ⁷, George Săraci ⁸, Dacian Tirinescu ⁹, Ileana Monica Borda ¹⁰ and Gabriel Cismaru ¹¹

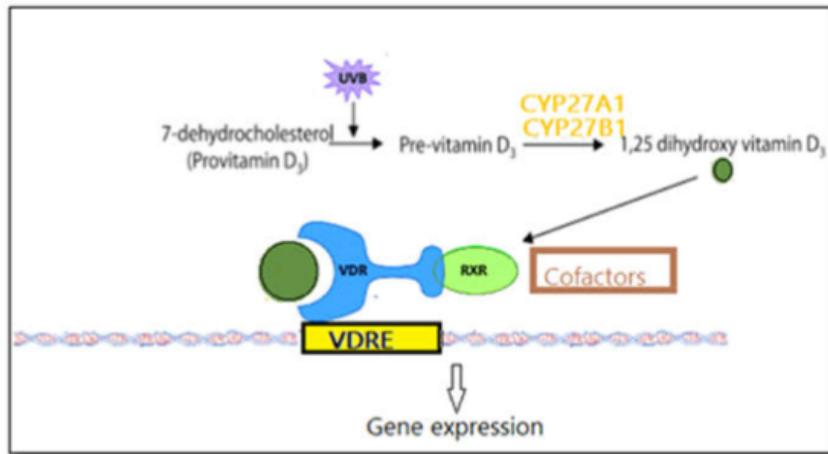


Figure 1. Vitamin D synthesis in the skin.

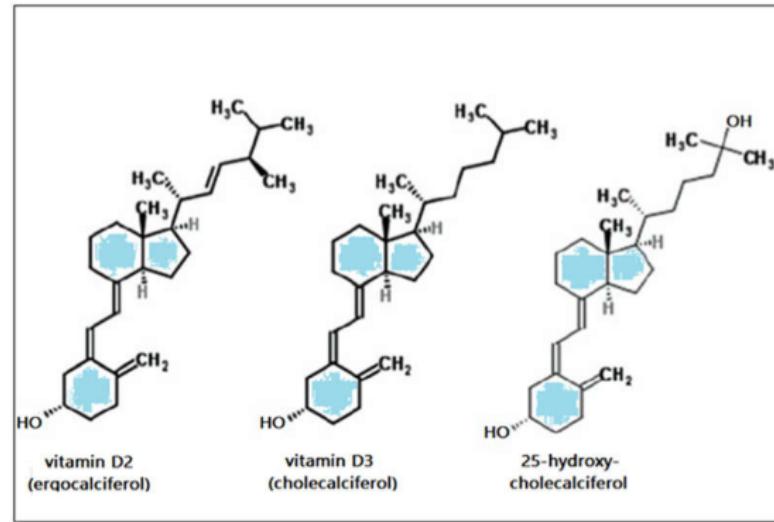


Figure 2. Structure of vitamin D and its derivates.

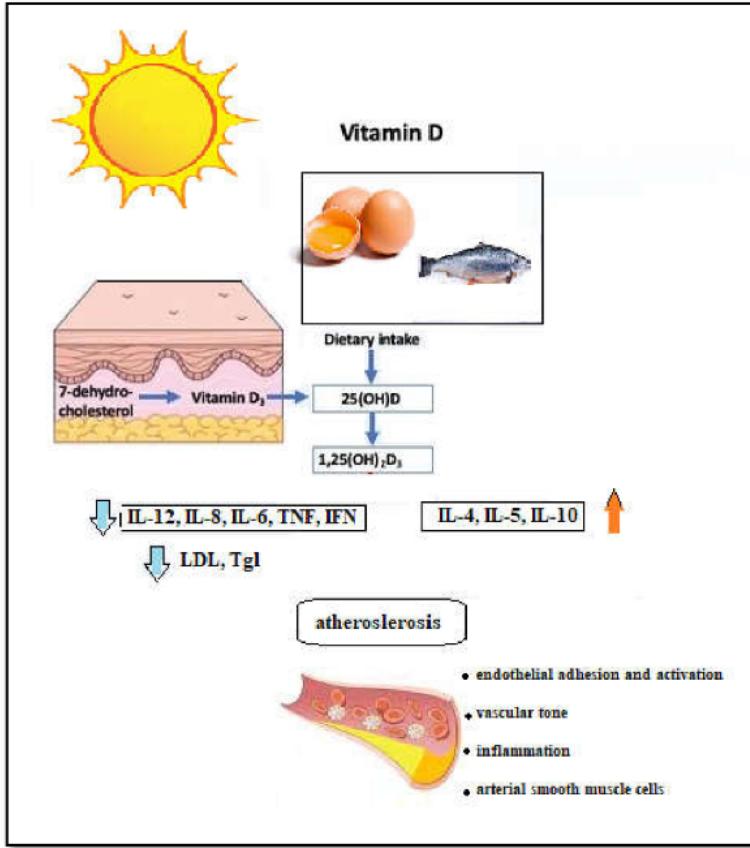


Figure 3. Mechanism of action of vitamin D on the process of atherosclerosis

Table 2. Vitamin D effects on atherosclerosis.

Lipid profile	<ul style="list-style-type: none"> Reduces total cholesterol Reduces LDL-C Reduces triglycerides Increases HDL-C
Endothelial adhesion and activation	<ul style="list-style-type: none"> Reduces vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) Reduces E-selectin
Vascular tone and endothelial function	<ul style="list-style-type: none"> Increases the level of nitric oxide Reduces the level of reactive oxygen species released
Inflammation and atherosclerosis	<ul style="list-style-type: none"> Reduces proinflammatory type 1 cytokines: IL-12, IL-6, IL-8, IFN-gamma, TNF-alpha Increases anti-inflammatory type 2 cytokines: IL-4, IL-5, and IL-10 Reduces oxidative stress through reducing cathepsin, IL-6 and adiponectin
Arterial smooth muscle cells	<ul style="list-style-type: none"> Decreases production of angiotensin II Decreases oxidative stress Inhibits cellular senescence Reduces tissue factor expression

TAKE HOME MESSAGE (1)

- La diminuzione dei livelli di LDL e l'attenuazione della risposta infiammatoria rappresentano le due strategie terapeutiche fondamentali contro l'aterosclerosi oggi disponibili
- I farmaci di maggior successo sono gli inibitori della sintesi endogena del colesterolo da parte della HMG-CoA reduttasi (statine) che abbassano il colesterolo LDL , hanno effetti anti-infiammatori e possono persino invertire il carico della placca aterosclerotica.
- Gli anticorpi monoclonali contro la proproteina convertasi subtilisina / kexina di tipo 9 (PCSK9) abbassano il colesterolo LDL in modo ancora più drammatico bloccando la degradazione delle LDL.
- Tuttavia, anche dopo l'abbassamento delle LDL con statine e l'inibizione di PCSK9, rimane un sostanziale rischio infiammatorio residuo. Queste osservazioni hanno stabilito i ruoli distinti, ma sovrapposti, dell'infiammazione e del rischio associato ai lipidi.

TAKE HOME MESSAGE (2)

- Il trattamento a basse dosi con il farmaco antiproliferativo e antinfiammatorio colchicina ha prevenuto eventi cardiovascolari in un piccolo studio clinico prospettico. Inoltre, lo studio sui risultati della trombosi antinfiammatoria Canakinumab (CANTOS) ha dimostrato che l'inibizione dell'infiammazione da parte dell'anticorpo per l'interleuchina 1- β (IL1- β) canakinumab ha ridotto gli endpoint cardiovascolari nei pazienti con aterosclerosi accertata del 15%.
- il recente studio di riduzione dell'infiammazione cardiovascolare (CIRT) che ha testato il metotrexato antinfiammatorio a basso dosaggio in pazienti con malattia coronarica non ha raggiunto i suoi endpoint
- la vaccinazione e l'immunomodulazione possono fornire una futura terapia antigene-specifica



Mens sana in corpore sano.....

PATOGENESI DELL'ATEROSCLEROSI:

La formazione della stria lipidica

Rappresenta la prima alterazione della parete vasale nello sviluppo dell'aterosclerosi, ed è presente fin dalle prime decadi di vita. Si forma attraverso le seguenti tappe:

1. Penetrazione di LDL nella tonaca intima della parete vasale
2. Ossidazione e condensazione delle LDL (ox-LDL e AGEs)
3. Stimolazione delle cellule endoteliali e muscolari a produrre citochine pro-infiammatorie che richiamano leucociti e monociti attraverso molecole d'adesione (VCAM-1)
4. Penetrazione delle cellule mononucleate nell'intima richiamate da fattori chemiotattici (MCP-1)
5. Trasformazione dei macrofagi in cellule schiumose per azione dell'MCS- F (perdita dell'autoregolazione)
6. Formazione della stria lipidica

PATOGENESI DELL'ATEROSCLEROSI:

dalla stria lipidica alla placca stabile

- Se lo stimolo persiste la stria lipidica progredisce verso forme aterosclerotiche più complicate, la placca fibro-lipidica
- • La trasformazione in placca è dovuta alla migrazione di cellule muscolari lisce che secernono matrice extracellulare e formano un cappuccio fibroso che separa il cuore lipidico dal lume vasale (PDGF, bFGF)
- IL-1 e TNF-> PDGF e bFGF
- • Probabilmente stimoli meccanici (stress di parete) determinano la secrezione da parte dei macrofagi e delle piastrine di sostanza che stimolano la crescita delle cellule muscolari lisce
- • La placca, a differenza della stria, protude nel lume vasale determinando un ostacolo al flusso ematico

ATEROSCLEROSI E IMMUNITA'

- L'aterosclerosi è una malattia infiammatoria cronica con una importante componente autoimmune
- La presenza di cellule T e B nella placca ha fatto nascere l'ipotesi che l'aterosclerosi includa una risposta autoimmune .
- il contenuto crescente della placca di cellule mieloidi e linfociti è correlato a complicazioni cliniche e può predisporre a futuri eventi tromboembolici causati da grandi infiltrati cellulari e un cappuccio fibroso sottile
- Di tutti i candidati che possono fungere da antigeni attivatori delle cellule B e T, i livelli plasmatici di LDL e la sua proteina centrale ApoB mostrano il più forte legame clinico e causale con l'aterosclerosi nell'uomo. Le particelle residue ricche di trigliceridi contenenti ApoB mostrano anche una forte associazione con CVD, infiammazione e vie immunitarie