

FISIOPATOLOGIA D'ORGANO #4

ATEROSCLEROSI

Prof: Ruscica Massimiliano – 08.10.2021 – Autore: Camilla Volpi – Reviewer: Francesca Badolato

Le **malattie cardiovascolari** sono patologie che riguardano il cuore e i vasi sanguigni. Se c'è un'occlusione di un vaso non passa il sangue e quindi non arrivano né ossigeno né nutrienti, portando a morte cellulare ed alla necrosi. La necrosi è morte cellulare con rilascio all'esterno del contenuto enzimatico della cellula. Infatti nelle ACS (sindrome coronarica acuta) si vanno a misurare gli enzimi presenti, tra cui la troponina.

Le patologie del cuore e dei vasi sanguigni includono numerosi problemi, tra cui la maggior parte sono correlati ad un processo chiamato aterosclerosi.

L'aterosclerosi è una condizione che si sviluppa quando si forma una placca tra le pareti delle arterie, è un processo che dura decenni. Questo costrutto fa diminuire il lume del vaso, rendendo più difficile per il sangue il passaggio. Se si forma un coagulo di sangue, questo può andare a bloccare il flusso sanguigno, il che può causare un ictus o infarto del miocardio. La stenosi è un aumento della dimensione della placca e si ha una diminuzione del lume del vaso. Il lume rappresenta la pervietà del vaso: quando si ha stenosi, il lume ha minore pervietà rispetto al 100%.

Ci sono delle **tecniche ecografiche** che permettono, grazie ad algoritmi, di calcolare quant'è la probabilità di avere un evento grazie all'analisi della pervietà del vaso. Coloro che hanno pervietà minore avranno maggiore pressione sanguigna perché il flusso è stato alterato dalla protrusione della stenosi verso l'interno. Se la pressione aumenta molto, la placca può andare incontro a rottura e si ha l'esposizione del materiale interno all'esterno, intervengono poi le piastrine e si forma il trombo.

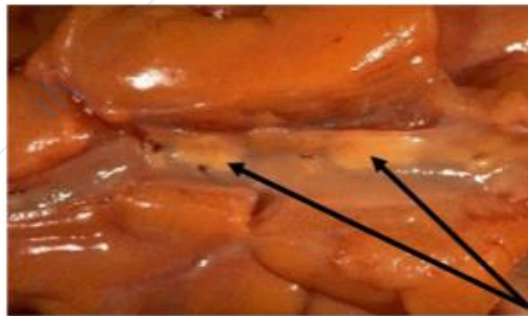
Per la maggior parte del secolo scorso, le persone hanno considerato l'aterosclerosi una patologia dello storage del colesterolo caratterizzata dall'accumulo di colesterolo nella parete del vaso. Nel 1904 il militare russo **Anitschkow**, che è stato il primo a studiare il colesterolo, ha utilizzato conigli per degli esperimenti: somministrò ai conigli 61 tuorli d'uovo al giorno per 70 giorni, dopodiché andò a studiare il loro sistema cardiovascolare. Scopri che senza il colesterolo non c'è l'infarto: grazie alla colorazione rosso Sudan dell'aorta, ha visto che le prime lesioni alle pareti apparivano a livello dell'arco aortico vicino alla biforcazione (per questi esperimenti sull'aterosclerosi non si possono usare topi perché non sviluppano questo tipo di patologie,



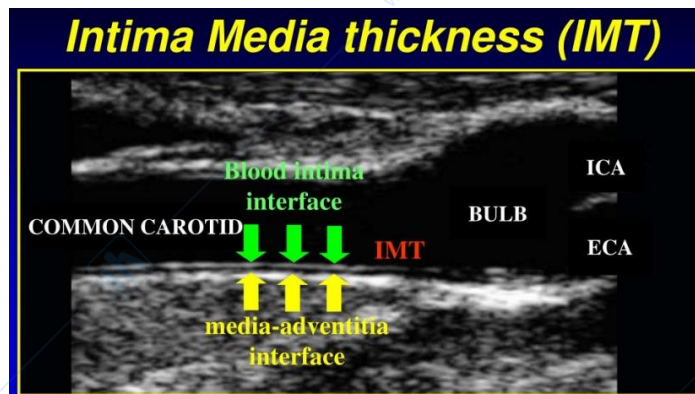
Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi

infatti sono knockout per il recettore della LDL e per ApoE, e quindi il 90% del loro colesterolo è HDL, colesterolo “buono”, per farle sviluppare ai topi bisogna usare modelli genetici con una dieta detta high cholesterol diet; il coniglio è un animale pronò allo sviluppo di questa patologia).

Le **strie lipidiche (fatty streaks)** rappresentano la prima lesione visibile dell'aterosclerosi. Ad una prima analisi, queste appaiono come aree con discolorazione gialla nella superficie interna dell'arteria, ma queste non protrudono nel lume del vaso né impediscono il flusso di sangue. Anche se non si conosce la precisa causa della formazione delle strie lipidiche, osservazioni su animali suggerisce che alcuni fattori di stress possono causare una disfunzione endoteliale precoce (endotelio danneggiato). Questa disfunzione, dovuta per esempio all'ipertensione, permette l'entrata e la modificazione dei lipidi (ossidazione) nello spazio subendoteliale, dove fungono da mediatori pro-infiammatori che iniziano il reclutamento dei leucociti e la formazione di cellule schiumose (foam cells), che sono il segno distintivo delle strie lipidiche.



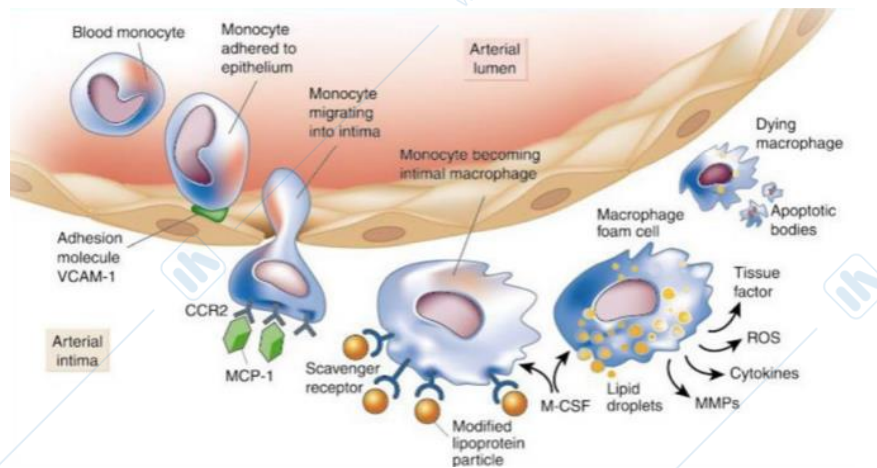
IMT (intima media thickness) è una tecnica ecografica (dall'esterno), non endoscopica (dall'interno), alla carotide. Nell'immagine si può vedere lo spessore dell'intima media (di solito 0,5 mm) e si vede quanto è pervio il vaso. Esistono algoritmi di previsione (score) dove si inseriscono le diverse variabili di rischio e viene calcolata la probabilità di avere un problema cardiovascolare entro 10 anni. Oggigiorno si stanno studiando gli score poligenici: oltre ai valori classici (glicemia, fumo, ipertensione, ...) diventa importante anche la predisposizione genica. (Si può vedere l'algoritmo su Progetto Cuore).



Step chiave nella formazione dell'ateroma

1. Le **cellule endoteliali** subiscono attivazione infiammatoria: l'endotelio subisce il primo danno.
2. L'attivazione dell'endotelio permette ai **leucociti** (presenti nella circolazione sanguigna) di entrare nell'ateroma: le cellule endoteliali cominciano a creare degli spazi tra loro; quindi, le prime cellule immunitarie e le LDL cominciano ad entrare.
3. I leucociti cominciano a produrre **citochine, chemochine e chemoattrattori**, che partecipano al reclutamento delle cellule infiammatorie nella parete intima del vaso.
4. I monociti richiamati all'interno della placca diventano **macrofagi tissutali** e internalizzano le lipoproteine LDL andando a generare le foam cells. Le cellule di solito si autoregolano nell'internalizzazione del colesterolo, invece i macrofagi internalizzano tutte le LDL che trovano.
5. Le **foam cells** (cellule schiumose) secernono citochine infiammatorie e specie reattive dell'ossigeno (ROS): i ROS sono dannosi perché fanno il lipoperossido, che è un'ossidazione dei fosfolipidi di membrana, quindi viene degradata la membrana che diventa più sensibile alla rottura (e quindi a rottura della placca).
6. I macrofagi foam cells possono morire andando a dare necrosi e infiammazione, a formare il core necrotico della placca.
7. Le azioni dei fagociti amplificano la risposta infiammatoria locale producendo **metalloproteasi** MMPs, che degradano le macromolecole della matrice extracellulare e il cappuccio fibroso della placca, determinando l'esposizione del contenuto interno all'esterno.
8. La **rottura del cappuccio** fibroso debole permette al sangue di attivare i costituenti trombogenici del core necrotico della placca, in particolare il fattore tissutale procoagulante prodotto dai macrofagi.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi



Quindi l'aterosclerosi è una patologia cronica vascolare, che si sviluppa in principio nella parete intima delle grandi arterie elastiche e muscolari. È caratterizzata dalla presenza dell'ateroma, che è una placca lipidica fibro-infiammatoria, che cresce in dimensione fino a protrudere nel lume vascolare e a coinvolgere la tunica media del vaso. Si ha bisogno di fare prevenzione, che costa molto meno che curare dopo che si è arrivati ad un infarto per esempio. C'è una dieta disponibile per chi soffre di ipertensione per prevenire eventi, che si chiama DASH diet (riduzione dell'apporto di sale).

I fattori che aumentano il rischio di sviluppare questo tipo di patologia sono:

- Mutazioni dei recettori per LDL
- Iperlipidemia
- Diabete mellito
- Ipertensione
- Fumo
- Obesità
- Storia familiare: ipercolesterolemia familiare (in eterozigosi colpisce 1/250, è una patologia a trasmissione autosomica dominante, si fanno screening a cascata nell'albero genealogico, per iniziare la terapia il prima possibile).
- Sesso
- Età avanzata

Per riassumere, i passaggi generali dello sviluppo della patologia vascolare sono:

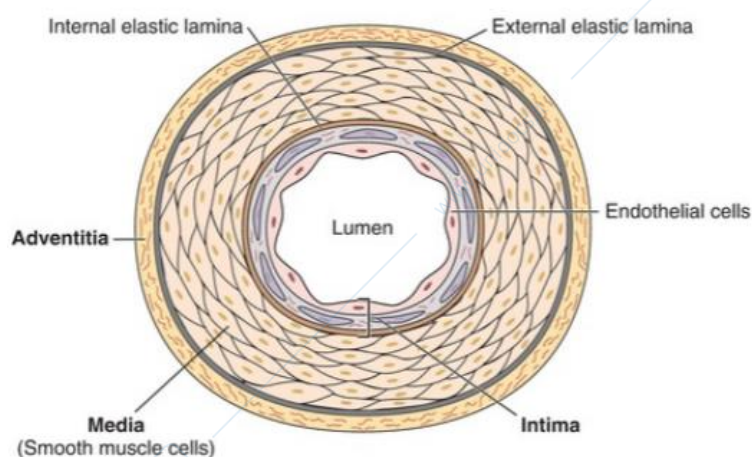
1. Stadio di **iniziazione e formazione** della placca: l'iniziazione consiste nell'attivazione delle cellule endoteliali dovute ad un danno a loro carico.
2. Stadio di **adattamento** della placca
3. Stadio **clinico**: rottura della placca e formazione del trombo.

Struttura della parete del vaso

La parete del vaso consiste di 3 layers:

1. **Intima:** lo strato più vicino al lume del vaso e quindi il più “intimo” con il sangue, formato dalle cellule endoteliali.
2. **Media:** formato dalle cellule muscolari lisce (SMC).
3. **Adventitia:** lo strato più esterno.

Intima media è l'insieme dei due layer più vicini al lume del vaso.



Un singolo strato di cellule endoteliali copre la **tunica intima** e fornisce un barriera metabolicamente attiva tra il sangue circolante e la parete vascolare.

La **tunica media** è il layer più spesso dell'arteria in stato fisiologico. È formata da cellule muscolari lisce o SMC e da matrice extracellulare; servono per le funzioni contrattili ed elastiche del vaso (quando i vasi si irrigidiscono aumenta il rischio di danneggiamento del vaso). La componente elastica, più presente nelle grandi arterie, si allarga quando c'è pressione alta e poi si ritrae durante la diastole, dando propulsione al sangue nel vaso.

L'**adventitia** contiene nervi, vasi linfatici e sanguigni (definiti vasa vasorum, cioè vasi dei vasi) che nutrono le cellule della parete arteriosa.

In un'arteria sana l'endotelio svolge funzioni strutturali, metaboliche e di signaling per il mantenimento dell'omeostasi della parete.

Le **cellule endoteliali** formano una barriera che contiene il sangue nel lume del vaso e controlla il passaggio di molecole grandi dalla circolazione allo spazio subendoteliale. Queste cellule, derivate dal mesoderma, sono metabolicamente attive e alterano la loro funzione quando si altera il microambiente. Hanno funzione antiaggregante e producono i NOs (vasodilatazione). Partecipano attivamente all'infiammazione esponendo superficie

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi

per interazioni molecolari ed esprimendo fattori di coagulazione e piastrinici, citochine, chemochine e molecole di adesione leucocitaria. La regolazione delle funzioni fisiologiche mantiene la normale omeostasi, mentre la disfunzione endoteliale è associata con la patologia.

(Studiare le funzioni nella tabella in situazione di danno e fisiologica).

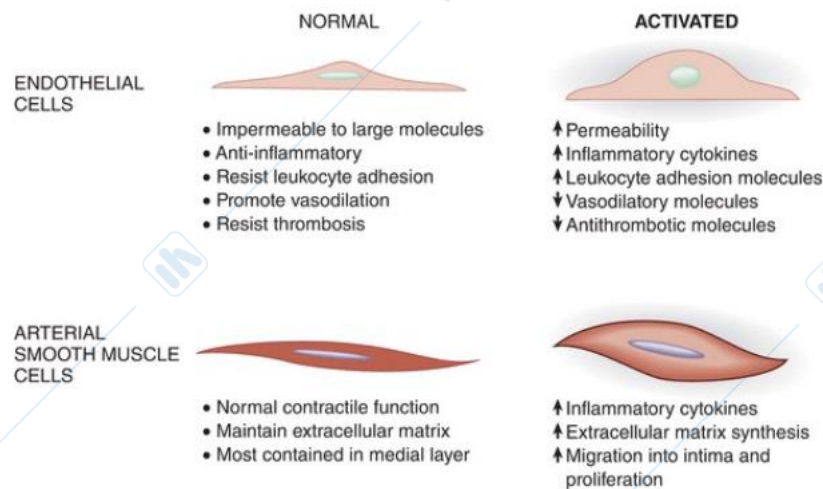
Physiologic Function	Endothelial Dysfunction
Platelet resistant	Platelet adhesion
Anticoagulation	Procoagulation
Fibrinolysis	Antifibrinolysis
Quiescent	Migration/proliferation
Leukocyte resistant	Leukocyte adhesion
Antiinflammatory	Proinflammatory
Selective impermeability	Enhanced permeability
Quiescent SMC	SMC activation
Vasomotion	Disrupted vasomotion
Matrix stability	Matrix remodeling
Vascular stability	Angiogenesis

Nell'endotelio danneggiato, le cellule SMC si attivano, cioè migrano nello spazio subendoteliale e acquisiscono attività macrofage-like (fenotipo sintetico, iniziano a secernere citochine). All'interno della placca ci sono dei fenomeni di neoangiogenesi.

Durante il suo flusso, il sangue incontra molecole antitrombotiche prodotte dal normale endotelio per prevenire la formazione di trombi o per promuovere la fibrinolisi (distruzione dei coaguli di fibrina). Alcune di queste molecole risiedono sulla superficie endoteliale (come eparan solfato, trombomodulina, e attivatori del plasminogeno), mentre altri prodotti antitrombotici dell'endotelio entrano in circolo (come prostaciline e ossido nitrico NO).

Inoltre le cellule endoteliali secernono sostanze che modulano la contrazione delle SMC nel layer medio. Queste sostanze includono vasodilatatori, come NO e prostaciline, e vasocostrittori, come endotelina, che alterano la resistenza arteriolare e quindi il flusso sanguigno luminale. In una normale arteria, la predominanza di vasodilatatori risulta nel rilassamento della rete di cellule muscolari lisce SMC.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi



Come si vede in questa figura, quando le cellule endoteliali sono attivate diminuiscono la loro lunghezza, quindi aumenta la pervietà tra le cellule e aumenta anche la facilità di entrata delle LDL.

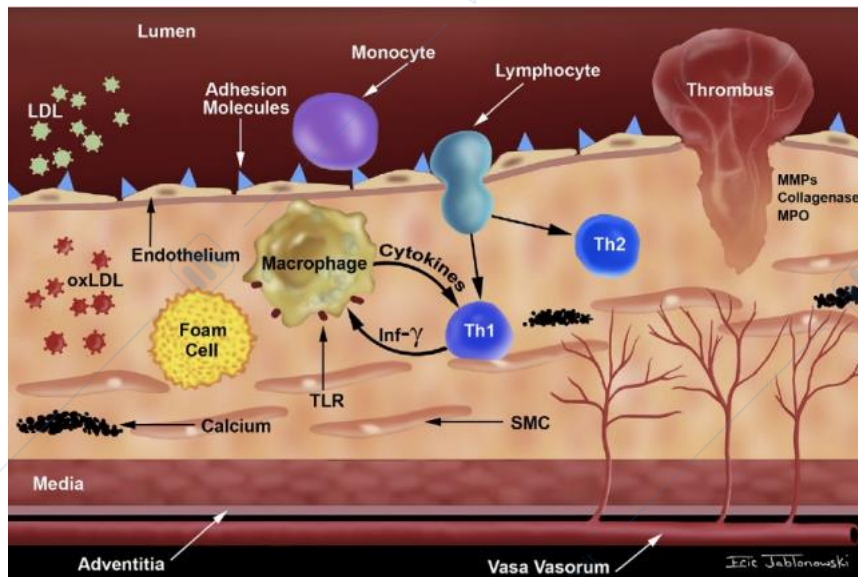
Le SMC nella media delle normali arterie muscolari hanno sia capacità contrattile che sintetica. Sono anche capaci di sintetizzare collagene (la sua secrezione non è del tutto nociva perché serve a stabilizzare la placca), elastina e proteoglicani che formano la maggior parte della matrice extracellulare vascolare. Inoltre, le SMC producono mediatori vasoattivi e infiammatori, tra cui interleuchina-6 (IL-6) e TNF. Anche le statine portano alla stabilizzazione della placca, interferendo con la secrezione di collagene, oltre a ridurre il colesterolo.

La normale funzione delle SMC è di mantenere il tono vascolare grazie a proteine contrattili che regolano il diametro del vaso, la pressione del sangue e la distribuzione del flusso. Quando c'è un danno, le cellule subiscono una trasformazione fenotipica che porta la cellula alla proliferazione, secrezione e migrazione con la capacità di diventare miofibroblasti e partecipare nella riparazione.

Le SMC possono anche diventare foam cells attraverso l'ingestione di lipidi. Nell'aterosclerosi quindi partecipano ai pathways autocrini e paracrini, specialmente nelle interazioni con macrofagi e cellule endoteliali. Una scoperta importante è che le SMC possono andare incontro a transdifferenziamento perdendo l'espressione di marker SMC classici e andando ad esprimere un fenotipo macrofagico (macrofage-like).

La disfunzione delle cellule endoteliali è il primo step nella formazione di lesioni ateroscleritiche e di solito è più probabile che ciò avvenga a livello delle curve e biforcazioni delle arterie che sono soggette a maggior shear stress e a flusso sanguigno turbolento.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi



Come si può vedere, c'è neoangiogenesi a livello della placca: non ci sono però i periciti, quindi l'endotelio nuovo risulta più pronò alla rottura per effetto della pressione sanguigna, portando a formazione di emorragia. Inoltre, i triangolini in figura sono molecole di adesione: queste si formano durante l'infiammazione per richiamare cellule immunitarie → entrano i monociti, che diventano macrofagi e poi foam cells perché internalizzano colesterolo. Tutto ciò porta alla produzione di MMP, che rompe il cappuccio fibrotico della placca, portando alla formazione del trombo che può otturare il vaso.

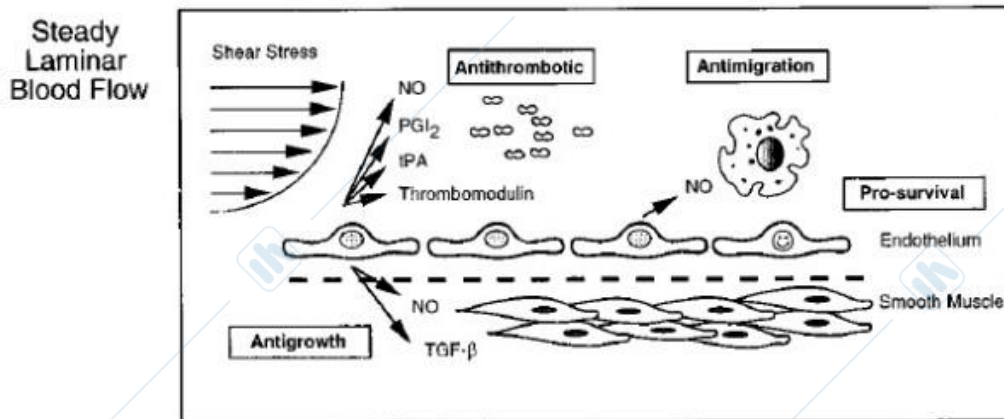
Iniziazione e formazione della placca

La lesione alle cellule endoteliali della parete intima può essere causata da microrganismi, tossine, iperlipidemia, ipertensione ed eventi immunologici. Anche lo **shear stress** emodinamico (stress da flusso) a livello delle biforcazioni può portare alla disfunzione endoteliale.

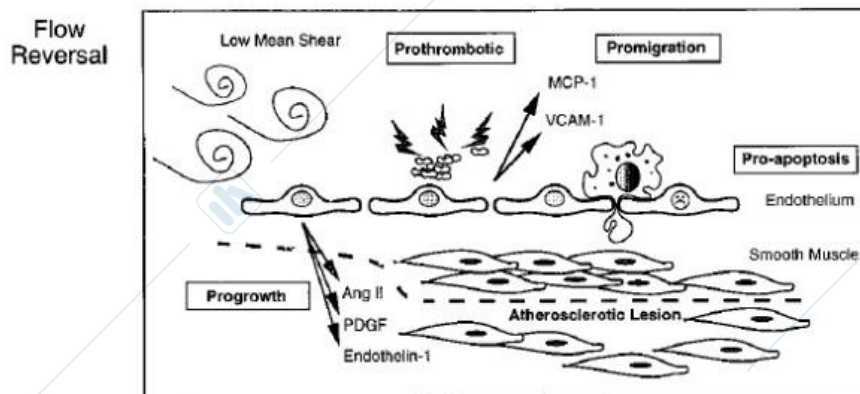
La predisposizione di alcune regioni delle arterie allo sviluppo di ateromi spiega il ruolo dello **stress idrodinamico**. Nelle sezioni lineari delle arterie, il normale shear stress dato dal flusso laminare porta alla produzione endoteliale di NO (ateroprotettivo), che è un vasodilatatore endogeno, di un inibitore dell'aggregazione piastrinica e di sostanze antinfiammatorie.

Il **flusso laminare** e alto shear stress attivano fattori di trascrizione che stimolano l'attività ateroprotettiva dell'endotelio e accentuano l'espressione dell'enzima antiossidante superossido dismutasi, che protegge dalle ROS.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi



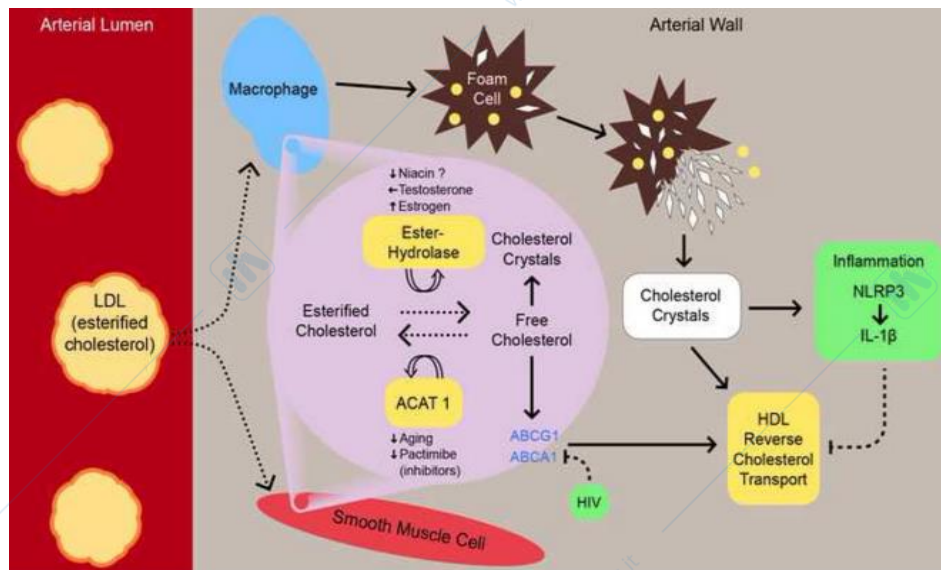
Il **flusso non laminare** (vorticoso) a livello delle biforcazioni causa un basso shear stress che riduce le funzioni **ateroprotettive** dell'endotelio. Infatti, le arterie con poche biforcazioni, come l'arteria mammaria interna, mostrano resistenza all'aterosclerosi, invece i vasi con molte biforcazioni, come la carotide comune e la coronaria sinistra, hanno molti siti comuni per la formazione di ateromi.



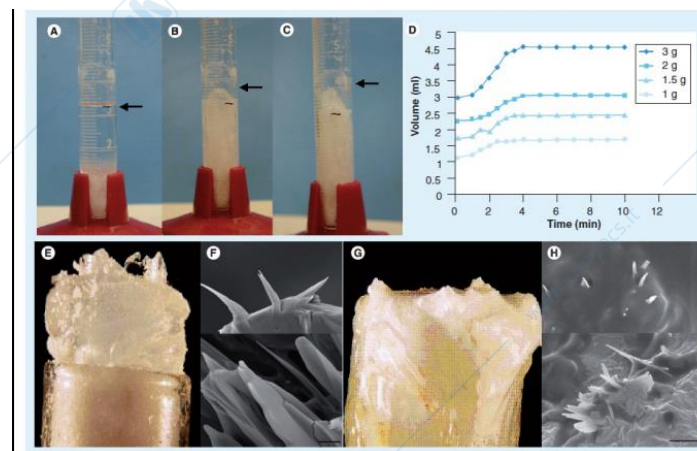
Cristalli di colesterolo

Maseri è stato il primo a parlare dei cristalli di colesterolo, che portano a infiammazione e ad un evento meccanico di rottura. In questa immagine si può vedere il trasporto del colesterolo tra le cellule e lo spazio extracellulare. L'equilibrio tra il colesterolo esterificato (LDL) e quello libero è mantenuto da trasportatori di membrana, che portano il colesterolo libero nello spazio extracellulare dove viene catturato dalle HDL. Le foam cells che muoiono per sovraccarico di colesterolo esterificato e cristalli di colesterolo rilasciano il loro contenuto nello spazio extracellulare all'interno della placca. Il colesterolo nello spazio extracellulare porta a cristallizzazione.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi



Se aumenta la cristallizzazione del colesterolo, i cristalli in eccesso rompono la placca. È stato fatto un esperimento in cui hanno sciolto dei cristalli di colesterolo dopo riscaldamento in provetta (si forma una soluzione satura) e poi hanno coperto con il cellofan (rappresenta il cappuccio della placca), dopo hanno fatto cristallizzare il colesterolo, che in eccesso ha portato alla rottura del cellofan. Quando viene rilasciato dalle foam cells, cambia il pH e quindi cristallizza (espandendosi) e potrebbe portare alla rottura della placca.

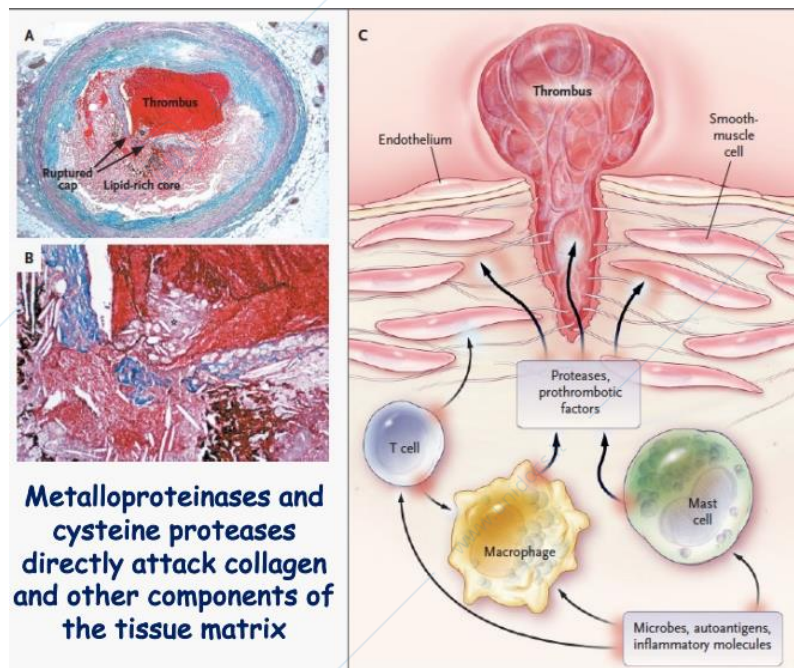


La placca diventa instabile quando le SMC migrano nell'intima. I macrofagi secernono molti tipi di citochine e fattori di crescita, che promuovono la migrazione e l'accumulo di SMC. Le lipoproteine ossidate inducono il danno tissutale e quindi poi l'accumulo di macrofagi. Secernono:

- MCP-1: fattore che promuove l'ulteriore accumulo di macrofagi.
- ROS
- Fattori di crescita (PDGF, FGF, TNF) che modulano la crescita di SMC e cellule endoteliali
- Interleuchine: IL-6, IL-1.

Fisiopatologia d'organo #4 lezione – Prof. Ruscica Massimiliano – Argomento: Aterosclerosi

- INF- γ e TGF- β
- Fattori chemotattici



Trombo su placca: il trombo si forma sulla placca perché questa si è fissurata, ciò porta all'infarto.

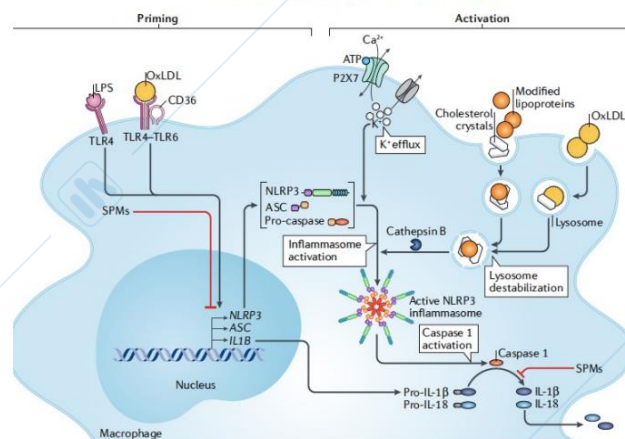
Nel 1994 Maseri fu il primo a pubblicare su “the New England Journal of Medicine” l'importanza dell'infiammazione. Il biomarcatore per eccellenza che correla con le patologie cardiovascolari è la proteina C reattiva, che se è alta in seguito ad un evento cardiovascolare, si andrà incontro più facilmente ad un altro evento fatale. Negli studi di intervento (es. con statine), quelli che hanno maggior diminuzione della proteina C reattiva mostrano un maggior beneficio.

La proteina C reattiva non è causale, è solo un biomarcatore: quando è alta, non è essa stessa la causa dell'evento, ma è solo un indicatore. Negli studi in cui si overesprime negli animali la proteina C reattiva, questi non mostrano un aumento di frequenza degli eventi cardiovascolari, se comparati agli animali senza overespressione. Studi Mendeliani (genetici) hanno dimostrato che i soggetti con polimorfismi che determinano dei ridotti livelli di proteina C dalla nascita, non hanno ridotto rischio di avere eventi cardiovascolari.

Quindi questa proteina è lo specchio di un problema, non ne è la causa.

Quando misuro un biomarker in studi epidemiologici/di popolazione, la genetica può dimostrare la causalità → se ho un polimorfismo che diminuisce il biomarcatore e tutti quelli che hanno la diminuzione sono protetti dall'aver un evento cardiovascolare, c'è causalità. Uno studio di associazione non è mai causale (come nel caso della proteina C reattiva).

Modified lipoproteins and cholesterol crystals induce inflammasome activation



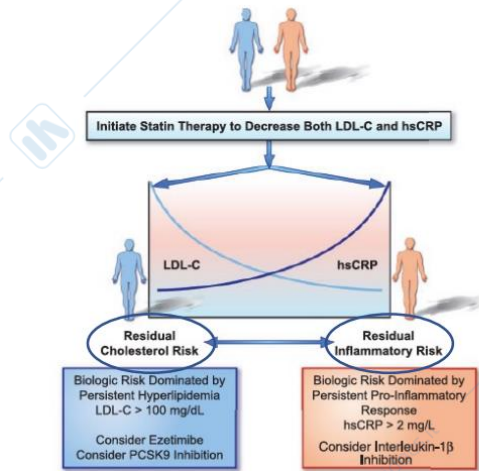
Nell'infiammazione un importante attore è l'**inflammasoma**, che è la proteina NLRP3, che attiva la cascata delle caspasi, che attivano IL-1 β , IL-6 e IL-18 (main drivers dell'infiammazione nella placca e sono biomarcatori causali perché hanno visto che i soggetti con polimorfismi con riduzione di IL-6/riduzione del recettore per IL-6 avevano meno probabilità di sviluppare eventi cardiovascolari rispetto a chi non ha il polimorfismo). Queste IL sono state valutate in studi clinici per definire l'efficacia o meno del trattamento con determinati farmaci che riducono il rischio d'infarto.

Duewell nel 2010 ha dimostrato che insieme ai cristalli di colesterolo vi era la deposizione di NLRP3.

Quindi il vero trigger è un connubio tra i livelli d'infiammazione e di colesterolo. Il cut off per la CRP è 2, se si va oltre aumenta il rischio. Kit hsCRP (high sensibility) → misura la CRP a livelli molto bassi.

Dopo un primo evento di infarto, se somministro le statine (per ridurre l'ipercolesterolemia), non è detto che il paziente non avrà più un secondo evento → rimane un rischio residuo, che può essere dato, per esempio, dall'infiammazione.

CHOLESTEROL HYPOTHESIS INFLAMMATORY HYPOTHESIS



La differenza tra prevenzione primaria e secondaria è che la secondaria si basa sul monitoraggio del soggetto che ha già avuto un primo evento; invece, la primaria si basa sul monitoraggio di un individuo a rischio che non ha ancora avuto un primo evento.