

AGGIORNAMENTO

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE E MECCANISMI DI ROTTURA DELLA PLACCA ATEROMASICA

Morphological aspects of atherosclerotic lesions and pathogenesis of plaque rupture

GUIDO CARPINO¹, EUGENIO GAUDIO²

¹Dipartimento di Scienze Motorie, Umane e della Salute, Università di Roma "Foro Italico", Roma, Italia; ²Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche, Medico-Legali e dell'Apparato Locomotore, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

SUMMARY

The term "atherosclerosis", introduced by Marchand in 1904, refers to a chronic pathological damage characterized by lipoprotein retention in the intima and media of arteries. Numerous classifications have been proposed on the basis of morphological aspects of atherosclerotic lesions. The recent classification by Virmani and associates underscores the link between lesion morphology and clinical disease. This classification introduces the *Thin Cap Fibroatheroma* as a specific type of lesion. The *Thin Cap Fibroatheroma* is characterized by a thin fibrous cap (<65 µm), a large necrotic core and contains numerous macrophages (> 25 per microscopic field). The thin cap is vulnerable to plaque rupture, with the exposition of the necrotic core and, subsequently, thrombosis. This type of plaque is responsible for the 60% of sudden coronary death. The progression of plaque morphology is due to inflammatory processes in the artery wall. The first pathological modifications affect endothelial cells in specific regions of the arterial tree, predilection sites with low or oscillatory endothelial shear stress, located near branch points and along inner curvatures.

Inflammatory processes are characterized by the balance among different sub-population of inflammatory cells and produced cytokines; in particular, the development of vulnerable plaque and plaque rupture are due to the production of several mediators by T helper 1 lymphocytes, M1 pro-inflammatory macrophage, dendritic cells and activated platelets.

Keywords: atherosclerosis, plaque morphology, inflammation, endothelium.

Aspetti Morfologici e classificazioni della placca aterosclerotica

Il termine **arteriosclerosi** fu coniato da Lobstein nel 1833 per indicare il processo di indurimento delle arterie (1, 2).

Indirizzo per la corrispondenza

Prof. Eugenio Gaudio
Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche,
Medico-Legali e dell'Apparato Locomotore
Sapienza Università di Roma
Via Borelli, 50 - 00161 Roma
E-mail: eugenio.gaudio@uniroma1.it

Oggi il termine di arteriosclerosi è aspecifico, raggruppando una serie di quadri morbosi che comprendono patologie diverse. Il termine **aterosclerosi**, introdotto da Marchand nel 1904, indica più propriamente un processo morboso cronico caratterizzato dalla comparsa nelle arterie elastiche e muscolari di ispessimenti focali sclerojalini o sclerolipidici intimo-mediali responsabili di quadri anatomo-clinici che, nei paesi industrializzati, costituiscono una frequente causa di morte (1, 2).

Storicamente, già nel 1845, Rokitansky nel *Manuale di Anatomia Patologica* descrisse una patologia caratterizzata dalla deposizione di sostanze sul versante interno delle arterie e responsabile della formazione di aneurismi e obliterazioni spontanee, indicandola quale la malattia più frequente a carico delle arterie (1, 2). Nel 1858 Rudolf Virchow, dimostrò che l'ispessimento intimale della placca aterosclerotica era sub-endoteliale e perciò non poteva derivare dalla deposizione di sostanze circolanti a contatto con la superficie interna dei vasi. Secondo il patologo, l'aterosclerosi doveva essere quindi considerata come un processo infiammatorio, alla stregua dell'endocardite, e perciò introdusse il termine "*endoarterite cronica deformante o nodosa*" (1-3).

All'inizio del XX secolo due tipi di lesioni intimali erano conosciute: nei bambini, i piccoli depositi di lipidi all'interno dell'intima erano descritti come "strie lipidiche" (o fatty streaks), mentre con il termine di placche fibrose (o fibrous plaque) si definivano le lesioni fibrolipidiche presenti nelle arterie degli adulti. Tuttavia non era universalmente accettato che i due quadri anatomopatologici rappresentassero diverse fasi di una stessa patologia (1-3). Fu il patologo Ludwig Aschoff che nel 1933 sostenne la tesi secondo la quale le lesioni rinvenute nei bambini e negli adulti rappresentassero fasi diverse (precoce e tardiva) di una stessa malattia; pertanto, Aschoff distinse due componenti principali di tale processo morboso: la componente lipidica, che compare nella tonaca intima delle arterie fin dalla prima infanzia e la componente fibrotica che compare solo negli adulti. Aschoff designò con il termine "*aterosi*", o "*ateromatosi*", le fasi della malattia caratterizzate dalla sola componente lipidica, riservando il termine di "*aterosclerosi*" agli stadi fibro-lipidici. Di fatto,

Aschoff operò la prima classificazione delle lesioni aterosclerotiche che si basava su tre classi, morfologicamente distinte, ma collegate dalla loro evoluzione temporale (1-3).

Nel 1958, la World Health Organization raccolse tutte le esperienze dei numerosi patologi che succedettero ad Aschoff nello studio delle diverse fasi dell'aterosclerosi ricavando una classificazione basata sulla sequenza: stria lipidica - ateroma - placca fibrosa - lesione complicata (*Tabella 1*). Con il termine di "lesione complicata", furono identificate le placche con emorragie, fissurazioni, ematomi o trombi (4). Dal 1994, l'American Heart Association (AHA) adottò una nuova classificazione e stadiazione delle lesioni aterosclerotiche (5, 6). Tale classificazione suddivide le lesioni aterosclerotiche in 8 tipologie sulla base dell'evoluzione fisiopatologica e temporale del processo patologico (*Tabella 1*). Le lesioni possono essere raggruppate in lesioni precoci (tipo I e II), lesioni intermedie (tipo III) e lesioni avanzate (tipo IV, V, VI, VII e VIII). Le lesioni di tipo I sono lesioni microscopiche caratterizzate dalla presenza di piccoli ed isolati gruppi di macrofagi contenenti vescicole lipidiche. Le lesioni di tipo II equivalgono sostanzialmente alle strie lipidiche già descritte da Aschoff. Le lesioni di tipo III, o pre-ateromi, sono caratterizzate dalla presenza di vescicole e particelle lipidiche extracellulari nell'intima delle arterie senza però un massivo, confluyente e ben delineato accumulo di materiale lipidico (6). Le lesioni di tipo IV, o ateromi, sono caratterizzate da un denso accumulo di lipidi extracellulari denominato "*core lipidico*", solitamente visibile ad occhio nudo al taglio della superficie della lesione; nella maggior parte dei casi, tali lesioni non determinano un'ostruzione del lume arterioso ma piuttosto un aumento dello spessore esterno

Tabella I - Corrispondenza tra le principali classificazioni adottate per le lesioni aterosclerotiche.

WHO 1958 (4)	AHA 1993-1994 (5, 6)	Virmani et al 2000 (8)
Stria lipidica	Tipo I	Ispessimento intimale
	Tipo II	Xantoma intimale
	Tipo III	Ispessimento patologico dell'intima
Ateroma	Tipo IV	Fibroateroma (Fibrous cap atheroma)
Placca fibrosa	Tipo V	
		Fibroateroma con cap sottile (Thin Cap Fibroatheroma)
Lesioni complicate	Tipo VI	Lesioni con trombi
	Tipo VII	Placche fibrocalcifiche
	Tipo VIII	

della parete. Le lesioni di tipo V, o *fibroateromi*, sono invece caratterizzate dallo sviluppo di tessuto connettivo fibroso neofornato denominato cappello fibroso (*fibrous cap*) che avvolge il core lipidico. Il fibroateroma è frequentemente responsabile di un'ostruzione del lume arterioso (5). Le lesioni di tipo VI sono lesioni complicate dalla presenza di fissurazioni, ulcerazioni ed ematomi con formazione di trombi o meno. Infine, le lesioni di tipo VII e VIII sono rispettivamente caratterizzate dalla calcificazione e dalla fibrosi del core lipidico (5).

A tale classificazione, è stata più recentemente affiancata la classificazione ad opera di Virmani et al che introduce il concetto di placca vulnerabile (7, 8). Tale classificazione si affianca a quella proposta dall'AHA (Tabella I) e ne risulta in parte sovrapponibile (7, 9-11); essa ha il pregio di evidenziare innovative caratteristiche morfologiche e di correlarle con aspetti clinici fondamentali nell'evoluzione della patologia (Figura 1). Tale classificazione suddivide le lesioni aterosclerotiche in *precoci* ed *avanzate*. Le lesioni precoci sono ulteriormente divise in *ispessimento*

intimale, *xantoma intimale* ed *ispessimento patologico dell'intima* (9).

L'*ispessimento intimale* (*Adaptive Intimal Thickening*, corrispondente ad AHA Tipo D) è caratterizzato dall'iniziale comparsa di depositi lipidici nell'intima (Figura 1), visibili soltanto con tecniche chimiche e microscopiche e caratterizzate dalla presenza di piccoli ed isolati gruppi di macrofagi contenenti vescicole lipidiche (cellule schiumose: macrophage foam cells). Tali lesioni sono già presenti nelle coronarie del 45% dei lattanti all'ottavo mese di vita (9).

Lo *xantoma intimale* (*Intimal Xantoma*, corrispondente a AHA Tipo II) è caratterizzato dalla presenza di un maggior numero di macrophage foam cells, stratificate in file adiacenti, e dall'iniziale comparsa di cellule muscolari lisce intimali contenenti lipidi (Figura 1). Il 99% dei bambini tra i due ed i 15 anni ha questo tipo di lesioni nell'arco aortico e nell'aorta discendente. Le coronarie vengono interessate solitamente attorno ai 15 anni ed il coinvolgimento aumenta fino ai 60 anni (7, 9, 11).

L'*ispessimento patologico dell'intima* (*Pathological Intimal Thickening*, corrisponden-

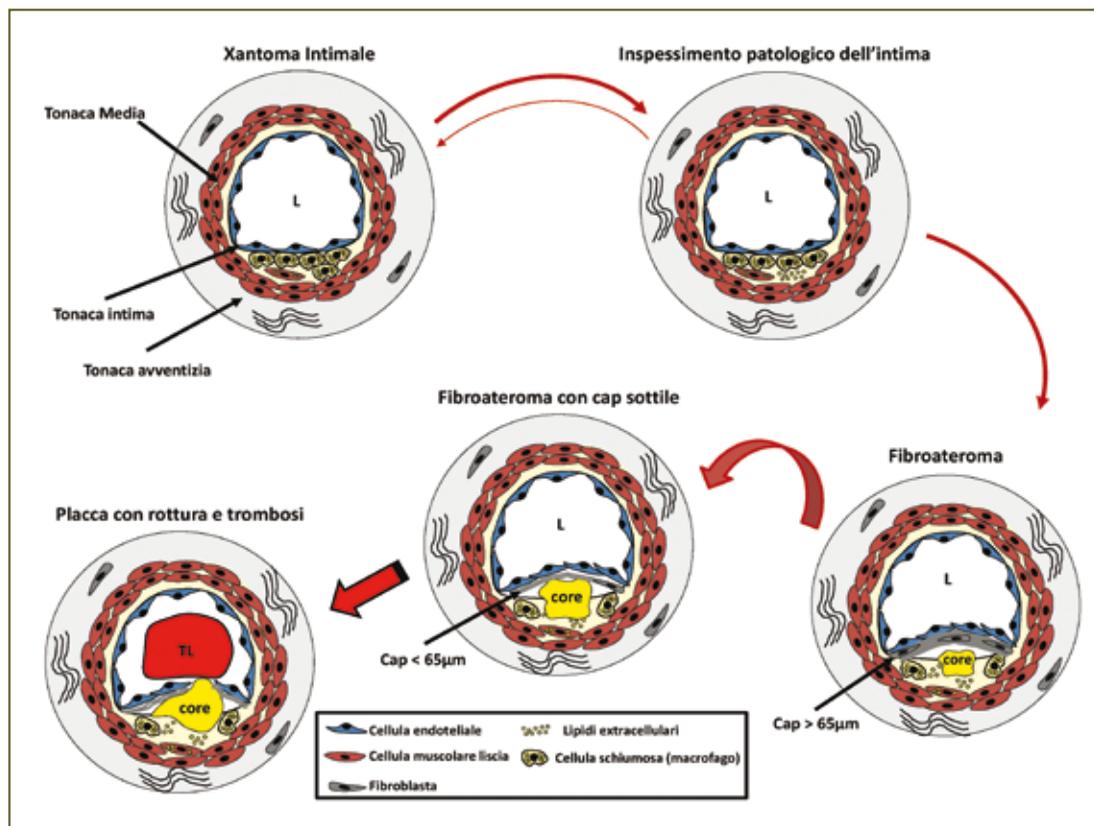


Figura I - Lo schema riassume la progressione delle lesioni aterosclerotiche dalle lesioni precoci alle lesioni avanzate con trombi. L'ispessimento intimale è caratterizzato dalla comparsa di piccoli ed isolati gruppi di macrofagi contenenti vescicole lipidiche (cellule schiumose). La progressione del danno determina la comparsa di xantomi intimali, caratterizzati da un maggior numero di cellule schiumose anche di derivazione da cellule muscolari lisce. L'ispessimento patologico dell'intima è una lesione intermedia, caratterizzata dall'ulteriore comparsa di particelle lipidiche extracellulari nell'intima. La successiva progressione della lesione è caratterizzata dalla confluenza dei lipidi extracellulari che insieme ai detriti cellulari derivati dall'apoptosi dei macrofagi formano un core lipidico centrale ricoperto da un cappuccio (cap) fibroso: tale lesione è il fibroateroma. Processi di infiammazione, proteolisi, emorragia e necrosi all'interno dell'intima, determinano la riduzione dello spessore del cap fibroso che si assottiglia progressivamente. Si viene a formare il fibroateroma con cap sottile (thin cap fibroatheroma) caratterizzato da un involucro fibroso con uno spessore < di 65 µm e con un ricco infiltrato macrofagico. Tale tipo di lesione è vulnerabile alla rottura dell'involucro con esposizione del sottostante core lipidico e successiva trombosi luminale. L= lume; TL= trombo luminale. Figura adattata da referenza (9).

te a AHA Tipo III) rappresenta un "ponte" morfologico e chimico tra le lesioni precoci ed avanzate. È caratterizzato dalla presenza di vescicole e particelle lipidiche extracellulari nell'intima delle arterie senza però un massivo, confluyente e ben delimitato accumulo di materiale lipidico (Figura I). L'ispessimento patologico dell'intima

è presente nei giovani adulti ed in particolare in quelle sedi, quali l'aorta, dove più frequentemente si riscontrano xantomi intimali (7, 9, 11).

Le lesioni avanzate vengono a loro volta suddivise in lesioni prive di trombi o lesioni con trombi. Le lesioni senza trombi possono essere distinte in *fibrous cap ath-*

eroma e placche fibrocalcifiche. Tali lesioni sono caratterizzate da uno spesso cappuccio fibroso il quale è responsabile di una stenosi concentrica che può provocare, con la sua crescita costante, l'ischemia dei tessuti irrorati (*Figura 1*). La placca fibrocalcifica si distingue per la presenza di grandi accumuli di calcio all'interno alla lesione (9, 10).

La vera novità della classificazione di Virmani è però rappresentata dall'introduzione del *Thin Cap Fibroatheroma* (TCFA). Tale lesione è caratterizzata da un *cap* fibroso particolarmente sottile che si forma in seguito a processi di infiammazione, proteolisi, emorragia e necrosi all'interno dell'intima; è la lesione che più facilmente può andare incontro a rottura che, esponendo il core lipidico, innesca i meccanismi di formazione del trombo. Istologicamente, il TCFA si contraddistingue per un involucro fibroso con uno spessore minore di 65 μm (*Figura 1*) e per un ricco infiltrato macrofagico costituito da più di 25 cellule per campo ad alto ingrandimento (9, 10).

Attualmente, si ritiene che la maggior parte delle sindromi coronariche acute sia da ricondurre alla presenza di una trombosi luminale; gli studi autoptici hanno evidenziato che trombi luminali sono associati a tre differenti tipi di lesioni aterosclerotiche (9, 10). Pertanto, le placche con trombi sono suddivise in:

- *placche con rottura* dell'involucro fibroso (*Figura 1*): il trombo è in diretta continuità con il sottostante core lipidico; sono presenti nel 60% dei soggetti colpiti da morte coronarica improvvisa e sono la causa più frequente di morte negli uomini al di sotto dei 50 anni e nelle donne anziane (9, 10). Le placche con rottura si sviluppano su lesioni caratterizzate da un grande core necrotico (>30% della placca), un sottile cap fibroso (<65 μm) e un ricco infiltrato costituito da macrofagi e linfociti T. Il trombo,

ricco in piastrine, si sviluppa per il contatto del sangue circolante con il core necrotico, altamente trombogenico (9, 10).

- *placche con erosioni*: non è dimostrabile un sito di rottura. Tipicamente l'endotelio è assente ed il trombo è a contatto con l'intima sottostante; queste costituiscono circa il 40% dei reperti autoptici in soggetti colpiti da morte improvvisa più frequenti nelle giovani donne e nei fumatori; le placche con erosione sono caratterizzate da una matrice ricca in proteoglicani con numerose cellule muscolari lisce e scarse cellule infiammatorie.

- *placche con noduli calcifici*: estremamente rare. Tali placche contengono noduli calcifici che sporgono nel lume con distruzione dei sovrastanti strati di collagene e dell'endotelio.

Sicuramente l'aspetto clinico più importante della classificazione di Virmani è l'introduzione del concetto di *Thin Cap Fibroatheroma*: è questo il tipo di lesione maggiormente "vulnerabile" alla rottura ed è il precursore della placca con rottura e trombosi. Da un punto di vista morfologico, il TCFA differisce dalla placca con rottura solamente per la presenza di un cap intatto e l'assenza di un trombo luminale. Lo spessore del cap è indicativo della vulnerabilità della placca (7, 9-11).

Aspetti ultrastrutturali delle placche aterosclerotiche

Le prime modificazioni ultrastrutturali coinvolgono le cellule endoteliali che assumono una forma cuboidale, mostrano la presenza di un reticolo endoplasmatico rugoso molto sviluppato e l'aumento dei corpi di Weibel-Palade, dove è stipato il fattore di Von Willebrand. In seguito, nella lesione, si ha graduale comparsa di numerose cellule schiumose (foam cells); dapprima, le cellule schiumose sono di

derivazione macrofagica; quindi, anche le cellule muscolari lisce iniziano ad accumulare lipidi e contribuiscono ad aumentare il pool di cellule schiumose all'interno della placca. Quindi, i lipidi iniziano ad essere presenti anche al di fuori delle cellule per confluire nella formazione di un core lipidico/necrotico insieme alle cellule in necrosi (1, 12). Importanti modificazioni ultrastrutturali si osservano a carico delle cellule muscolari lisce; esse da un fenotipo contrattile si trasformano in cellule con fenotipo secretivo caratterizzato dalla riduzione dei miofilamenti e dall'aumento delle cisterne di reticolo endoplasmatico rugoso. In tal modo, queste cellule diventano responsabili della produzione di fibre collagene, che si accumulano tra le cellule e contribuiscono a determinare la disorganizzazione intimale tipica delle fasi avanzate del processo aterosclerotico (1, 12).

Aspetti di patogenesi della placca aterosclerotica

Ruolo dell'endotelio e dello shear stress

Le cellule endoteliali sono responsabili di molteplici funzioni tra cui il mantenimento della permeabilità della parete e la regolazione della coagulazione mediante la produzione di numerose molecole quali gli attivatori del plasminogeno e le prostaciline; inoltre, l'endotelio è implicato nei processi di produzione della matrice extracellulare e di regolazione del flusso ematico e della reattività vascolare attraverso sostanze sia ad azione vasocostrittiva (Endotelina-1) sia vasodilatativa (Ossido Nitrico); infine, mediante il rilascio di numerosi fattori di crescita come il PDGF, l'FGF ed il TGF-beta, l'endotelio partecipa alla regolazione della crescita cellulare e, attraverso l'espressione di numerose molecole di adesione, ai processi dell'infiammazione e dell'immunità (13,

14). L'endotelio viene continuamente e fisiologicamente sottoposto alle forze generate dal flusso ematico laminare (*laminar shear stress*) che sono quantificabili nelle grandi arterie tra i 10 ed i 40 dynes/cm² (15). Tuttavia, in alcune zone dell'albero arterioso di particolare morfologia (curvature, biforcazioni), il flusso laminare può modificarsi diventando turbolento e vorticoso in seguito ad ostacoli meccanici o emodinamici; in tal modo il *laminar shear stress* può aumentare, ridursi oppure trasformarsi in *turbulent shear stress*. Nelle zone dove è presente un flusso laminare costante, le cellule endoteliali si presentano morfologicamente e funzionalmente normali; di contro, le zone sottoposte ad un flusso turbolento od ad un flusso laminare ridotto (non costante) presentano un endotelio alterato e sono maggiormente ed elettivamente esposte allo sviluppo di lesioni ateromasiche (15).

Modelli sperimentali hanno mostrato in che modo le alterazioni dello shear stress possano influenzare la patogenesi della placca aterosclerotica (15-17). Il normale flusso laminare ed eventuali aumenti dello shear stress possiedono un ruolo protettivo nei confronti dell'aterosclerosi; di contro, sia una riduzione del flusso laminare sia la presenza di un flusso vorticoso aumentano la velocità di formazione della placca seppure agendo in modo diverso. In particolare, la riduzione del flusso laminare è in grado di determinare lo sviluppo di placche più voluminose, più ricche di lipidi e povere di collagene e di cellule muscolari lisce in paragone con le lesioni insorte in presenza di un flusso turbolento e vorticoso. Pertanto, sembra che proprio la presenza di una riduzione del flusso laminare sia maggiormente legata allo sviluppo di placche vulnerabili che, come abbiamo visto, vanno più facilmente incontro a rottura (15, 16).

Le cellule endoteliali presentano una serie di molecole che funzionano da *meccanocettori* per il flusso laminare. Tali recettori, registrando le variazioni del flusso ematico, sono in grado di modificare l'espressione genica delle cellule endoteliali. La funzione di meccanocettori sul versante luminale viene svolta da canali ionici, da proteine G e da alcuni recettori Tirosin Kinasici (come il VEGF-r); sul versante ab-luminale, le *integrine* sono in grado di cogliere le variazioni delle forze a cui è sottoposta la parete del vaso interagendo con la matrice extracellulare; infine, molecole di giunzione tra cellule vicine come le *caderine* sono in grado di avvertire le forze meccaniche agenti su cellule endoteliali contigue. Tutti questi recettori possono innescare la risposta cellulare agendo su pathways citoplasmatici interconnessi come il sistema MAPK-ERK, a loro volta in grado di indurre una specifica espressione genica (16).

Ruolo dell'infiammazione

L'infiammazione gioca un ruolo chiave nella patogenesi dell'aterosclerosi; i processi infiammatori nelle arterie vengono favoriti dalle tipiche e pressochè fisiologiche alterazioni endoteliali presenti in particolari aree dell'albero arterioso: è infatti l'aumentata permeabilità endoteliale che consente una maggiore infiltrazione e la successiva ritenzione delle LDL nell'intima con conseguente formazione di lesioni aterosclerotiche precoci. Le successive modificazioni delle LDL, attraverso processi ossidativi ed enzimatici che hanno luogo nell'intima, portano al rilascio di fosfolipidi capaci di favorire e mantenere le modificazioni endoteliali nelle zone emodinamicamente predisposte. Contemporaneamente, le LDL ossidate sono riconosciute attraverso gli scavenger receptors e fagocitate da parte dei mac-

rofagi che si trasformano in cellule schiumose (13, 18, 19).

Inoltre, le molecole di adesione espresse dall'endotelio reclutano le cellule infiammatorie dal torrente circolatorio; successivamente, le citochine prodotte all'interno dell'intima determinano la differenziazione dei monociti reclutati in macrofagi con la conseguente up-regulation di recettori per l'immunità innata quali scavenger e toll-like receptors; attraverso tali recettori numerose sostanze quali endotossine batteriche, LDL ossidate e frammenti di cellule apoptotiche possono attivare i macrofagi stessi inducendo la produzione di citochine proinfiammatorie e di radicali liberi dell'ossigeno (13, 18, 19).

I macrofagi sono state le prime cellule infiammatorie ad essere associate con l'aterosclerosi e hanno un ruolo importante nella progressione delle lesioni vascolari (20, 21). Recentemente, i meccanismi di polarizzazione dei macrofagi nella patogenesi dell'aterosclerosi sono stati oggetto di grande interesse scientifico. I macrofagi presentano una grande plasticità ed il loro fenotipo è estremamente eterogeneo nelle diverse lesioni vascolari (22, 23). Inizialmente, due distinte modalità di attivazione macrofagica furono proposte per sub-classificare i macrofagi in pro-infiammatori (o M1) oppure in anti-infiammatori (o M2) (24). In generale, il ruolo e le funzioni delle specifiche sottopopolazioni è stato poco caratterizzato nella patogenesi dell'aterosclerosi.

Le sottopopolazioni macrofagiche M1 ed M2 sono predominanti a seconda delle differenti condizioni infiammatorie. In vitro, il trattamento di macrofagi non polarizzati con interferon (IFN) γ e Tumor Necrosis Factor (TNF) α è in grado di indurre la generazione (polarizzazione) di macrofagi M1, che producono una grande quantità di citochine pro-infiammatorie (Interleu-

kin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-12). Nell'iniziale sviluppo delle lesioni aterosclerotiche, i macrofagi M1 hanno un ruolo chiave e la loro attività pro-infiammatoria è in grado di agire e determinare le modificazioni osservabili a carico delle cellule endoteliali e delle cellule muscolari lisce (20, 25).

Alcune evidenze indicano che tale sottopopolazione macrofagica ha un ruolo importante nel promuovere la formazione di un core lipidico di grandi dimensioni, nella destabilizzazione delle placche e nella formazione dei trombi (22, 23).

I macrofagi possono essere polarizzati verso un fenotipo alternativo (M2) dal rilascio di specifiche citochine (IL-1 β , IL-4, IL-13, e IL-10) da parte di mastociti e linfociti T helper (Th) 2 all'interno delle placche aterosclerotiche. I macrofagi M2 sono macrofagi attivi nei processi di riparazione del danno tissutale, promuovendo il rimodellamento della matrice extracellulare ed il reclutamento dei fibroblasti (26). In generale, tale sottopopolazione macrofagica è in grado di produrre citochine anti-infiammatorie quali IL-4, IL-13, IL-10, con azione immunosoppressiva nei confronti dei linfociti T e dei macrofagi M1 determinando una riduzione dell'attivazione delle cellule endoteliali e muscolari lisce. Inoltre le citochine secrete dai macrofagi M2 supportano la presenza di linfociti T helper 2 con attività anti-infiammatorie. Infine, tali macrofagi sono in grado di secerne numerose metalloproteinasi della matrice (MMP), suggerendo un ruolo nella clearance delle cellule apoptotiche nelle prime fasi della formazione delle placche aterosclerotiche (20).

L'infiammazione ed i meccanismi di rottura della placca

Nella patogenesi delle lesioni aterosclerotiche, un ruolo importante è svolto dai linfociti T: un infiltrato linfocitario è sem-

pre presente nelle lesioni aterosclerotiche ed è di solito costituito da linfociti CD4+. L'espressione di molecole di adesione da parte delle cellule endoteliali è responsabile della migrazione all'interno della lesione ateromasica dei linfociti T, i quali sono in seguito attivati da cellule presentanti l'antigene. Le citochine prodotte dalle cellule presentanti l'antigene (IL-12, -18) sono responsabili dell'induzione di una risposta T helper di tipo 1 con produzione linfocitaria di Interferon gamma e Tumor Necrosis Factor. Tali sostanze sono, a loro volta, capaci di aumentare l'attivazione e l'espressione di molecole di adesione delle cellule endoteliali, di stimolare la produzione di proteasi della matrice e di ridurre la produzione di collagene da parte delle cellule muscolari lisce (18).

Di contro, l'attivazione di una risposta T helper 2 è capace di ridurre i processi infiammatori presenti nella placca inibendo le cellule Th1 attraverso il rilascio di IL-10 e TGF- β ; in tal modo, i linfociti Th2 sarebbero capaci di limitare la progressione delle lesioni aterosclerotiche. Un'analoga funzione di modulazione viene svolta dai linfociti T_{reg} in grado anche loro di produrre TGF-beta e IL-10 con successiva inibizione dei processi infiammatori e azione anti-aterogena. Tali osservazioni suggeriscono che, nella patogenesi della placca, un ruolo importante sia svolto dal pool di linfociti T presenti e dal *balance* tra i linfociti Th1, Th2 e T_{reg} e le specifiche citochine da essi prodotte (18). L'attivazione dei linfociti T è ulteriormente regolata da cellule presentanti l'antigene, quali le cellule dendritiche (27, 28). Le cellule dendritiche sono normalmente presenti nella parete vascolare ma, in corso di aterosclerosi, possono migrare anche dal torrente circolatorio all'interno della placca. Le cellule dendritiche sono associate alla vulnerabilità della placca e perlopiù localizzate nelle

aree maggiormente soggette a rottura. La migrazione delle cellule dendritiche nell'ateroma è mediata dall'espressione di molecole di adesione (P-selectine) sulle cellule endoteliali. Dopo la loro migrazione nella placca, le cellule dendritiche vanno in contro ad attivazione causata dai processi infiammatori in atto nelle lesioni ed iniziano a produrre mediatori infiammatori (IL-12, TNF α) che favoriscono la risposta T helper 1 (27, 28).

Di grande interesse è anche il ruolo delle piastrine nella patogenesi dell'aterosclerosi. In passato, la ridotta presenza di piastrine nelle lesioni aterosclerotiche ha portato a credere che il loro coinvolgimento nella patogenesi della aterosclerosi fosse praticamente irrilevante (29). Il concetto che l'attivazione e la successiva aggregazione piastrinica potessero avere un ruolo nell'influenzare la progressione della placca ateromasica è stato solo recentemente messo in luce (29).

Infatti, le disfunzioni delle cellule endoteliali sono responsabili di indurre aggregazione piastrinica nella sede della lesione.

In particolare, l'aumento della secrezione del fattore Von Willebrand in risposta a stimoli infiammatori può determinare il reclutamento locale di piastrine.

L'attivazione piastrinica sembra essere mediata soprattutto dall'azione di tre agonisti principali: il Trombassano A₂, l'ADP e la trombina. Il trombassano A₂ è secreto dalle cellule dell'infiammazione e dalle stesse piastrine; esso è prodotto dal metabolismo dell'acido arachidonico attraverso il pathway delle cicloossigenasi. L'ADP è secreto da globuli rossi e piastrine ed è capace, agendo su specifici recettori, di modulare e sostenere l'attivazione piastrinica. Infine, la trombina agisce a livello dei Protease-Activated Receptors (PARs) che sono costitutivamente espressi sulla membrana plasmatica delle stesse piastrine. In

assenza di tali agonisti, l'attivazione piastrinica può essere ulteriormente sostenuta da radicali liberi, capaci di ossidare i lipidi e di generare metaboliti bio-attivi dell'acido arachidonico. La produzione di radicali liberi è spesso associata ad alcune patologie metaboliche umane, quali le dislipidemie, il diabete e l'obesità, caratterizzate dal rilascio di sostanze infiammatorie dovute ad alterazioni del metabolismo proteico, lipidico e glucidico (29).

In seguito alla loro attivazione, le piastrine influenzano la progressione della placca aterosclerotica supportando la risposta infiammatoria in diverse maniere. L'aumento dell'espressione di molecole di adesione cellulare, quali le P-selectine, agevola il reclutamento di cellule infiammatorie (monociti e linfociti) all'interno della lesione vascolare. Inoltre, le piastrine attivate sono in grado di rilasciare metalloproteasi della matrice, di sintetizzare diverse chemochine quali l'interleuchina 1 β ed il Platelet Factor 4 e di stimolare la produzione di radicali liberi. Infine, un ruolo chiave viene svolto dalla produzione piastrinica di CD40 ligando. Tale molecola è in grado di agire a livello delle cellule endoteliali inducendo la produzione di radicali liberi, l'espressione di molecole di adesione cellulare, di chemochine e di fattori tissutali. Inoltre, il CD40 ligando piastrinico è direttamente responsabile del reclutamento dei neutrofilii ed è in grado di modulare il pool dei linfociti T nella placca: da un lato, stimola le cellule dendritiche che determinano un'attivazione della risposta Th1; dall'altro, è in grado di inibire il reclutamento dei linfociti T regolatori. In tale scenario, il CD40 ligando piastrinico è al centro dell'interazione tra endotelio, piastrine, cellule dendritiche e linfociti nel contesto dei processi infiammatori alla base dell'instaurarsi delle lesioni vascolari (29). I processi infiammatori appena descritti

sono anche strettamente legati ai meccanismi di sviluppo di placche vulnerabili e della loro successiva rottura. La destabilizzazione di tali lesioni è infatti dovuta alla produzione di citochine, proteasi, fattori di coagulazione, radicali liberi e molecole vasoattive da parte di linfociti Th1, macrofagi M1, mast-cells e piastrine; tali sostanze impediscono la formazione di un cap fibroso stabile e sono responsabili di rotture e fissurazioni della placca che, esponendo fattori tissutali e fibre collagene altamente reattive, determinano aumentata aggregazione piastrinica e successiva formazione di trombi (13, 18, 19).

La reversibilità dalla placca aterosclerotica

La progressione delle lesioni aterosclerotiche non è legata solamente al richiamo di monociti all'interno della placca ma anche da un loro intrappolamento nel sito infiammatorio (30). Un lavoro di Park et al ha mostrato in che modo l'interazione tra macrofagi e LDL ossidate sia in grado di determinare l'intrappolamento di foam cells di origine macrofagica all'interno della placca (31). L'induzione della fuoriuscita di foam cells dalla placca e della loro migrazione nei linfonodi loco-regionali sembra essere in grado di determinare una parziale regressione delle lesioni vascolari in modelli animali (32). Il CD36 macrofagico è implicato nel mantenere intrappolate le foam cells nella placca inibendone la successiva migrazione. Infatti, il legame tra CD36 e LDL ossidate determina una persistente attivazione nelle foam cells della Focal Adhesion Kinase (FAK) mediata dalla produzione di radicali liberi dell'ossigeno. L'utilizzo di molecole anti-ossidanti è in grado di ridurre la produzione di radicali liberi nelle foam cells inibendo la persistente attivazione della FAK (31). Conseguentemente, tali cellule tornano ad essere in grado di migrare e

di abbandonare la placca aterosclerotica. Pertanto, l'utilizzo di sostanze anti-ossidanti potrebbe determinare l'egresso di foam cells dalle placche vascolari e favorire così la regressione delle lesioni ateromasiche aprendo nuove possibili strategie terapeutiche (30).

Conclusioni e prospettive

Gli aspetti morfologici delle lesioni aterosclerotiche hanno importanti implicazioni patogenetiche e cliniche. Ancora incompleta è la conoscenza dei meccanismi che determinano l'assottigliamento del cap fibroso e la sua successiva rottura; similmente, ancora poco chiare sono le cause che determinano la trombosi delle placche senza rottura. Da un punto di vista clinico, lo studio morfologico della placca e le misurazioni delle sue dimensioni potrebbero migliorare la stratificazione del rischio cardiovascolare permettendo di iniziare più tempestivamente le misure preventive nei soggetti ad alto rischio (33).

A tale riguardo, il miglioramento delle metodiche di indagine non invasive per lo studio della morfologia della placca aterosclerotica è di fondamentale importanza per poter sviluppare programmi di prevenzione adeguati.

Glossario

AHA: American Heart Association
FAK: Focal Adhesion Kinase
FGF: Fibroblast Growth Factor
IFN: interferon
IL: Interleukin
MMP: metalloproteinasi della matrice
PARs: Protease-Activated Receptors
PDGF: Platelet-Derived Growth Factor
TCFA: Thin Cap Fibroatheroma
Th: T helper
TGF: Transforming Growth Factor
TNF: Tumor Necrosis Factor
VEGF-r: Vascular Endothelial Growth Factor-receptor
WHO: World Health Organization

Elenco degli argomenti trattati

- La classificazione di Virmani et al. evidenzia le caratteristiche morfologiche correlate ad aspetti clinici fondamentali nell'evoluzione della patologia.
- Il *Thin Cap Fibroatheroma* è una lesione vulnerabile alla rottura del cap fibroso con esposizione del core lipidico e successiva trombosi.
- Le lesioni precoci sono inizialmente favorite dalle alterazioni endoteliali presenti in particolari aree dell'albero arterioso a causa di specifici fattori emodinamici (shear stress).
- Lo sviluppo di placche vulnerabili e di trombosi è favorito dai mediatori prodotti da parte di linfociti T helper 1, macrofagi M1, cellule dendritiche e piastrine attivate.

RIASSUNTO

Il termine **aterosclerosi** fu introdotto da Marchand nel 1904 per indicare un processo morboso cronico caratterizzato dalla comparsa di ispessimenti focali sclerojalini o sclerolipidici intimo-mediali nella parete delle arterie elastiche e muscolari. Numerose classificazioni sono state proposte sulla base dei principali aspetti morfologici delle lesioni aterosclerotiche. La classificazione di Virmani et al. evidenzia le caratteristiche morfologiche correlate ad aspetti clinici fondamentali nell'evoluzione della patologia. Tale classificazione introduce il concetto di *Thin Cap Fibroatheroma*. Il *Thin Cap Fibroatheroma* è una lesione caratterizzata da un *cap fibroso* sottile (spessore <65 µm) e da un ricco infiltrato macrofagico (> di 25 cellule per campo); tale lesione è vulnerabile alla rottura del cap fibroso con esposizione del core lipidico e successiva trombosi. Le trombosi insorta su placche dopo rottura dell'involucro fibroso sono responsabili del 60% delle morti coronariche improvvise.

La progressione morfologica delle lesioni aterosclerotiche è strettamente legata ai processi di infiammazione che si svolgono all'interno della placca. Tali processi infiammatori sono inizialmente favoriti dalle alterazioni endoteliali presenti in particolari aree dell'albero arterioso a causa di specifici fattori emodinamici (shear stress). I processi infiammatori sono caratterizzati dall'equilibrio tra sottopopolazioni di cellule infiammatorie e dal bilanciamento delle specifiche citochine da essi prodotte; in particolare, lo sviluppo di placche vulnerabili e la successiva rottura del loro cap fibroso sono determinate dalla produzione di numerosi mediatori da parte di linfociti T helper 1, macrofagi M1, cellule dendritiche e piastrine attivate.

Parole chiave: *aterosclerosi, morfologia, placca, infiammazione, macrofagi, endotelio.*

Bibliografia

1. Gaudio E, Carpio G, Grassi M et al. [Morphological aspects of atherosclerosis lesion: past and present]. *Clin Ter* 2006; 157: 135-142.
2. Hort W. Arteriosclerosis: its morphology in the past and today. *Basic Res Cardiol* 1994; 89 (Suppl. 1): 1-15.
3. Virchow R. Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture XVI-Atheromatous affection of arteries. 1858. *Nutr Rev* 1989; 47: 23-5.
4. CLASSIFICATION of atherosclerotic lesions; report of a study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1958; 57: 1-20.
5. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1512-31.
6. Stary HC, Chandler AB, Glagov S et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 840-56.
7. Virmani R, Burke AP, Farb A et al. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: C13-8.
8. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1262-75.

9. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R et al. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res* 2014; 114: 1852-66.
10. Falk E, Nakano M, Bentzon JF et al. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. *Eur Heart J* 2013; 34: 719-28.
11. Narula J, Nakano M, Virmani R et al. Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques. *J Am Coll Cardiol* 2013; 61: 1041-51.
12. Perrotta I. Ultrastructural features of human atherosclerosis. *Ultrastruct Pathol* 2013; 37: 43-51.
13. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-95.
14. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 473-80.
15. Chiu JJ, Usami S, Chien S. Vascular endothelial responses to altered shear stress: pathologic implications for atherosclerosis. *Ann Med* 2009; 41: 19-28.
16. Li YS, Haga JH, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells. *J Biomech* 2005; 38: 1949-71.
17. Hsiai TK, Cho SK, Wong PK et al. Monocyte recruitment to endothelial cells in response to oscillatory shear stress. *Faseb J* 2003; 17: 1648-57.
18. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 2011; 12: 204-12.
19. Hansson GK, Robertson AK, Soderberg-Naucler C. Inflammation and atherosclerosis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 297-329.
20. Butcher MJ, Galkina EV. Phenotypic and functional heterogeneity of macrophages and dendritic cell subsets in the healthy and atherosclerosis-prone aorta. *Front Physiol* 2012; 3: 44.
21. Gaudio E, Nobili V, Franchitto A et al. Nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *Intern Emerg Med* 2012; 7(Suppl. 3): S297-305.
22. Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 1506-16.
23. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell* 2011; 145: 341-55.
24. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 953-64.
25. Butcher M, Galkina E. Current views on the functions of interleukin-17A-producing cells in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2011; 106: 787-95.
26. Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity* 2010; 32: 593-604.
27. Niessner A, Weyand CM. Dendritic cells in atherosclerotic disease. *Clin Immunol* 2010; 134: 25-32.
28. Perrins CJ, Bobryshev YV. Current advances in understanding of immunopathology of atherosclerosis. *Virchows Arch* 2011; 458: 117-23.
29. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-94.
30. Curtiss LK. Reversing atherosclerosis? *N Engl J Med* 2009; 360: 1144-46.
31. Park YM, Febbraio M, Silverstein RL. CD36 modulates migration of mouse and human macrophages in response to oxidized LDL and may contribute to macrophage trapping in the arterial intima. *J Clin Invest* 2009; 119: 136-45.
32. Llodra J, Angeli V, Liu J et al. Emigration of monocyte-derived cells from atherosclerotic lesions characterizes regressive, but not progressive, plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11779-84.
33. Sillesen H, Falk E. Why not screen for subclinical atherosclerosis? *Lancet* 2011; 378: 645-46.