

FISIOPATOLOGIA DELLA PLACCA

EFFETTO DEGLI ANTICORPI ANTI-PCSK9 NELLA STABILIZZAZIONE E REGRESSIONE DELLA PLACCA ATEROSCLEROTICA: IL MITO ANCORA VIVO DELLA RESTAURAZIONE VASCOLARE

Effect of PCSK9 inhibition on coronary plaque stabilization and regression: the still alive myth of vascular restoration

ANTONIO LANDI MD, MASSIMO NAPODANO MD

Dipartimento Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Università degli Studi di Padova

SUMMARY

Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) is a circulating protein that reduces low-density lipoprotein (LDL) receptor recycling to the hepatic surface, limiting removal of LDL particles from the circulation. Recent evidence suggest that PCSK9 participates in the initiation and progression of coronary atherosclerosis through regulation of cholesterol metabolism, inflammatory response and stabilization of atherosclerotic plaques.

PCSK9 inhibitors have emerged as novel therapeutic tools for hypercholesterolemia, regulating also atherosclerotic plaque stabilization and regression. Here we propose an overview of the effects of PCSK9 inhibitors on vascular restoration, by means of intravascular imaging techniques, and its impact on clinical outcomes. First, we describe the effects of lipid-lowering drugs on coronary plaque composition and extension. Then, we extensively discuss new insights into stabilization and regression of coronary plaque, such as determinants of plaque volume regression by intravascular ultrasonography (IVUS), their clinical relevance and the new emerging role of PCSK9 inhibitors on progression of coronary atherosclerosis in statin-treated patients. Indeed, the GLAGOV trial, a recent large study conducted among patients with coronary artery disease, demonstrated that adding evolocumab (a PCSK9 inhibitor) to statin treatment resulted in a 1% greater decrease in percent atheroma volume (PAV), measured by serial IVUS imaging, after 76 weeks. Finally, we present a brief overview of the impact of PCSK9 inhibition on cardiovascular outcomes. However, the overall picture of the clinical relevance of atheroma volume reduction and plaque regression should be investigated in further studies.

Key words: coronary atherosclerosis, PCSK9 inhibitors, plaque regression, intravascular imaging techniques, vulnerable plaque, myocardial infarction.

Introduzione

L'aterosclerosi coronarica è la causa principale della cardiopatia ischemica acuta o cronica e riconosce nella placca aterosclerotica la sua lesione elementare. Solo fino a tre decenni fa, il punto di vista dominante nella comunità scientifica riteneva l'aterosclerosi coronarica una deposizione passiva e irreversibile di detriti lipidici nella parete arteriosa. Successivamente, l'avvento della biologia cellulare e molecolare e, in particolare, dell'ingegneria genetica, capace di testare direttamente il ruolo di specifiche molecole in modelli sperimentali di aterosclerosi, ha soppiantato tale dogma e la più moderna e complessa "teoria dell'infiammazione" è oggi universalmente accettata come la base fisiopatologica della malattia aterosclerotica (1). Secondo questa teoria, l'aterosclerosi si sviluppa in alcune specifiche regioni arteriose "athero-prone" che presentano alterato *shear-stress* di parete. Questo si traduce poi nell'attivazione delle cellule endoteliali in senso pro-infiammatorio, l'espressione di molecole di adesione e chemo-attrattori e il reclutamento dei monociti e leucociti circolanti negli strati sub-intimali della parete vasale. Il successivo differenziamento dei monociti in macrofagi, il loro accumulo delle particelle ossidate di colesterolo-LDL (low density lipoprotein), la trasformazione in "foam-cells" e lo switch fenotipico delle cellule muscolari lisce contribuiscono allo

sviluppo e alla progressione della placca aterosclerotica. È importante sottolineare che le cellule infiammatorie sono coinvolte nello sviluppo e nella progressione, ma anche nella destabilizzazione della placca aterosclerotica, che conduce all'esposizione del core lipidico nel lume vasale, innescando l'aggregazione piastrinica e la formazione del trombo (2).

Tuttavia, l'aterogenesi non è un processo irreversibile; infatti, la sua progressione può essere rallentata o addirittura invertita a qualsiasi livello da specifiche strategie terapeutiche. L'ipotesi sulla possibilità di stabilizzazione e regressione dell'aterosclerosi coronarica nell'uomo è nata negli anni '90 (3) e inizialmente non fu pienamente accolta dalla comunità scientifica internazionale. Quest'idea, inizialmente supportata da modelli animali di aterogenesi in cui lesioni aterosclerotiche avanzate presentavano elementi indicativi di stabilizzazione (fibrosi, necrosi e calcificazioni), è tornata di primo piano negli ultimi anni grazie alle nuove tecniche di imaging intravascolare, che consentono, in aggiunta, di valutare prospetticamente nel tempo la sua progressione.

Elevati livelli di colesterolo LDL contribuiscono allo sviluppo e alla progressione dell'aterosclerosi coronarica, con incremento notevole della morbilità e della mortalità. Fin dalla loro introduzione nella pratica clinica, l'utilizzo delle statine ha mostrato un beneficio clinico considerevole, che si è dimostrato andare al di là del solo effetto ipolipemizzante (4). Si stima, infatti, che per ogni riduzione di 40 mg/dL (1 mmol/l) di colesterolo LDL, il rischio di eventi cardiovascolari maggiori si riduca del 24% con la terapia statinica (5). Diversi altri farmaci intervengono nella riduzione dei livelli di colesterolo LDL; di questi, l'ezetimibe si è dimostrato capace di ridurre il rischio di eventi cardiovascolari maggio-

Indirizzo per la corrispondenza

Massimo Napodano
Unità Operativa di Emodinamica e Cardiologia
Interventistica, Dipartimento Scienze
Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Università
degli Studi di Padova
Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova
E-mail: massimo.napodano@gmail.com

ri del 6-7% quando somministrato in aggiunta alla terapia con statine (6).

Tuttavia, nonostante i notevoli progressi nell'ambito della prevenzione cardiovascolare su larga scala, i dati più recenti della letteratura riconoscono ancora oggi le malattie cardiovascolari come la principale causa di mortalità nel mondo Occidentale (7). In questo scenario, quattro questioni rimangono ancora aperte e meritano di essere citate e affrontate adeguatamente. Prima di tutto, l'efficacia delle norme di prevenzione secondaria nel mondo reale, che documenta dati non confortanti: solo il 30% dei pazienti con malattia coronarica, infatti, raggiunge il target di colesterolo LDL stabilito dalle attuali indicazioni internazionali (<70 mg/dL) (8). Inoltre, alcuni sotto-gruppi ad alto rischio, come i pazienti con ipercolesterolemia familiare, spesso non raggiungono i target terapeutici (9) e il 5-10% dei pazienti sviluppa intolleranza alle statine (10). In ultimo, nonostante rivascolarizzazione coronarica adeguata e terapia medica ottimizzata, un numero considerevole di pazienti (tra il 10 e il 20%) con sindrome coronarica acuta va incontro comunque ad un evento cardiovascolare maggiore nei 12 mesi successivi all'evento acuto (11). Al fine di ridurre ulteriormente il rischio cardiovascolare residuo, una considerevole ricerca clinica si è quindi concentrata sullo sviluppo di nuove strategie terapeutiche volte a prevenire o ritardare la progressione della malattia coronarica. Sin dalla sua scoperta nel 2003 (12), il pathway della proproteina convertasi subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) è passato rapidamente dall'essere oggetto di numerosi studi di base e clinici, volti a determinare il suo ruolo fisiopatologico nell'aterosclerosi coronarica, a diventare un nuovo interessante target terapeutico nell'ambito della prevenzione cardiovascolare (13). Due anticorpi monoclonali

Punti chiave

- L'aterosclerosi coronarica è una malattia infiammatoria cronica la cui progressione può essere rallentata o addirittura invertita da specifici trattamenti farmacologici, come dimostrato da diversi studi che hanno utilizzato metodiche di imaging intravascolare.
- Gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 si sono dimostrati capaci di ridurre i livelli di colesterolo LDL ai valori più bassi raggiunti da una terapia ipolipemizzante ottimizzata.
- Il GLAGOV trial è il primo studio che ha documentato una regressione di placca in termini di volume percentuale dell'ateroma (PAV) dell'1% utilizzando un anticorpo monoclonale anti-PCSK9, l'evolocumab.
- Altri fattori, come il plaque burden, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale di placca hanno un ruolo notevole nel determinare il rischio cardiovascolare "residuo" dei pazienti ad alto rischio.
- L'impatto della regressione di placca sugli outcomes clinici dovrà essere chiarito in ulteriori studi, sebbene le iniziali evidenze sembrano dimostrare un effettivo beneficio clinico.

anti-PCSK9 hanno ottenuto l'approvazione da parte della *Food and Drug Administration* (FDA): evolocumab e alirocumab. In questa rassegna, alla luce delle recenti evidenze dello studio GLAGOV (14), discuteremo l'effetto dell'evolocumab nella stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica (determinata mediante tecniche di imaging intravascolare) e come quest'ultimo possa tradursi in un effettivo miglioramento degli outcomes cardiovascolari.

Effetto dei farmaci ipolipemizzanti sulla placca aterosclerotica

Il beneficio clinico della terapia ipolipemizzante con statine è ormai ben definito (15) e il loro utilizzo nei pazienti con cardiopatia ischemica è ampiamente promosso dalle attuali linee guida (16). In aggiun-

ta all'effetto diretto di riduzione dei livelli di colesterolo LDL, le statine possiedono diversi effetti pleiotropici nella stabilizzazione dell'aterosclerosi coronarica, modulando l'omeostasi della funzione endoteliale, lo stress ossidativo e l'infiammazione di placca (17). Gli effetti delle statine sulla progressione della placca aterosclerotica sono stati studiati *in vivo* attraverso differenti tecniche di imaging, come la tomografia ottica computerizzata (OCT, Optical Coherence Tomography), la TC coronarica e l'ultrasonografia intravascolare (IVUS, Intravascular Ultrasonography). In particolare, numerosi studi mediante l'utilizzo dell'IVUS hanno dimostrato come la terapia con statine ad elevata intensità sia capace di indurre una regressione del "plaque burden" (18-20). Kataoka et al. hanno analizzato i dati provenienti da otto studi clinici sull'effetto delle statine nelle cosiddette placche "vulnerabili" all'IVUS (ampio volume dell'ateroma, rimodellamento positivo e calcificazione "spotty"), dimostrando una regressione maggiore nei pazienti con placca "vulnerabile", suggerendo così un effetto di stabilizzazione mediato dalla terapia con statine (21). Tali evidenze sono supportate anche da studi che hanno utilizzato l'OCT (22, 23).

Oltre alle statine, un'altra terapia ipolipemizzante che agisce riducendo l'assorbimento del colesterolo a livello intestinale, l'ezetimibe, rientra nelle attuali linee guida di trattamento (16). Lo studio IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial) ha, infatti, mostrato una riduzione degli eventi cardiaci avversi in più di 18.000 pazienti in trattamento con ezetimibe e simvastatina rispetto alla sola simvastatina (24). Uno studio clinico randomizzato mediante l'utilizzo dell'IVUS ha documentato, inoltre, che la terapia di associazione ezetimibe più statina correla con il rimodellamento

negativo e induce una regressione della placca coronarica maggiore rispetto alla sola terapia statinica (25).

Recentemente, è emersa una nuova classe di farmaci ipolipidemizzanti, gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 alirocumab ed evolocumab. Il PCSK9 è una proteina che lega il recettore per le LDL espresso sulla superficie degli epatociti, portando alla distruzione del recettore e impedendo così il suo "recycling" intra-cellulare. Attraverso l'inibizione del PCSK9, questi nuovi farmaci si sono dimostrati in grado di ridurre, in maniera significativa (fino al 60%), i livelli di colesterolo LDL in aggiunta alla terapia con statine (26). È importante, inoltre, sottolineare come i livelli di PCSK9 correlino direttamente con le dimensioni del "necrotic core" delle placche aterosclerotiche nelle lesioni coronariche cosiddette "non culprit" (27). L'impatto dell'inibizione del PCSK9 sulla vulnerabilità di placca dovrà essere chiarito in ulteriori studi, ma iniziali evidenze riguardo l'alirocumab hanno mostrato una riduzione sia dell'infiltrato dei macrofagi di placca che delle dimensioni del "necrotic core" in un modello murino di aterosclerosi (28). Il GLAGOV trial (Global Assessment of Plaque Regression With a PCSK9 Antibody as Measured by Intravascular Ultrasound) ha documentato, mediante l'utilizzo dell'IVUS, una riduzione del volume percentuale dell'ateroma (PAV) nei pazienti trattati con evolocumab per 78 settimane (14). In un'analisi post-hoc del ODYSSEY LONG TERM study (Long-term Safety and Tolerability of Alirocumab in High Cardiovascular Risk Patients with Hypercholesterolemia Not Adequately Controlled with Their Lipid Modifying Therapy) (29), l'utilizzo di un inibitore del PCSK9, l'alirocumab, oltre alla terapia con statine, ha documentato una maggior sopravvivenza libera da eventi cardiaci e cerebrovasco-

lari maggiori (MACCEs, “Major Adverse Cardiac and Cerebrovascular Events”, definita come morte cardiaca, infarto miocardico non fatale, ictus ischemico, angina instabile richiedente l’ospedalizzazione). Prima di trattare più in dettaglio gli effetti dell’inibizione del PCSK9 sulla progressione dell’aterosclerosi coronarica alla luce delle recenti evidenze del GLAGOV trial, è importante chiarire i concetti di stabilizzazione e regressione di placca e come questi possano essere valutati *in vivo* mediante le tecniche di imaging intravascolare.

Stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica: dagli studi istopatologici al real-world

I notevoli progressi nella comprensione degli aspetti fisiopatologici dell’aterosclerosi coronarica, la migliore caratterizzazione tissutale della placca aterosclerotica e lo sviluppo di nuove tecniche di imaging *in vivo* che consentono valutazioni prospettiche nel tempo, hanno consentito di analizzare più in profondità l’effetto di strategie farmacologiche capaci di determinare la stabilizzazione o la regressione della placca aterosclerotica.

Stabilizzazione e regressione di placca rappresentano due fenomeni diversi e in parte correlati tra loro. La stabilizzazione consiste nel determinare un’alterazione della struttura e della composizione tissutale della placca o del sovrastante endotelio al fine di prevenire o ridurre la gravità della rottura di placca. Una serie di studi post-mortem e angiografici hanno mostrato come l’incidenza di infarto miocardico non è direttamente correlata al grado di stenosi coronarica (30). Di conseguenza, l’in-stabilizzazione della placca aterosclerotica, piuttosto che la sua dimensione assoluta, è stata considerata per anni il maggiore determinante della rottura di placca.

In realtà, come vedremo, i due fenomeni sono interconnessi tra loro e hanno un impatto comune e sinergico sugli outcomes clinici.

La regressione consiste, invece, nella riduzione complessiva del volume di placca, effetto mediato dalla riduzione delle dimensioni del pool lipidico, del “necrotic core” e dal ripristino della normale funzione endoteliale, andando quindi al di là della semplice stabilizzazione. Nonostante le critiche iniziali della comunità scientifica, gli iniziali studi di Nissen et al. (19, 20, 31), più di dieci anni fa, hanno mostrato come non solo bloccare la progressione, ma anche indurre una regressione di placca sia un obiettivo realistico in determinati pazienti.

Nelle fasi iniziali della malattia aterosclerotica, la crescita della placca è eccentrica, determinando così un’espansione compensatoria del vaso verso l’esterno, in modo tale da preservarne il lume (rimodellamento “positivo”) (32), a differenza del rimodellamento “negativo” che vede un restringimento dell’area vasale complessiva, per la riduzione dell’area alla

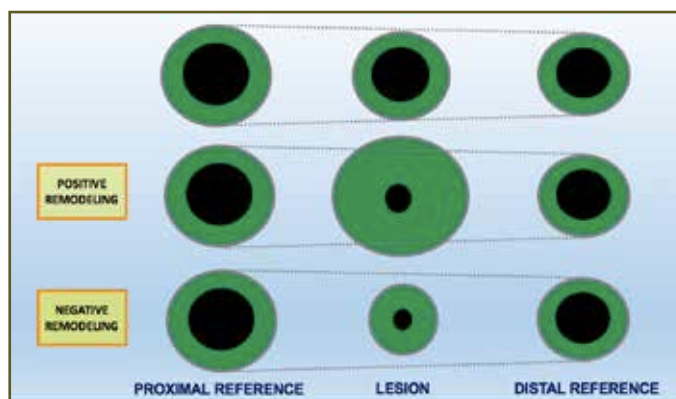


Figura 1 - Rimodellamento positivo e negativo. A seconda della dimensione della membrana elastica esterna (EEM) rispetto alla sua dimensione stimata nella sede della lesione, il rimodellamento vasale può essere positivo (in caso di espansione verso l’esterno) o negativo (in caso di riduzione dell’area vasale).

membrana elastica esterna (*Figura 1*). Numerosi studi hanno correlato il rimodellamento “positivo” alla presenza di un core lipidico più esteso e un maggior infiltrato di macrofagi, entrambi marker di vulnerabilità di placca, mentre il rimodellamento “negativo” si associa ad un maggior grado di stenosi in pazienti con lesioni calcifiche più stabili (33).

L'angiografia coronarica costituisce il gold standard per la valutazione della placca aterosclerotica. Tuttavia, la sua stima è basata sulla visualizzazione della stenosi del lume vasale, non essendo in grado di rilevare l'effetto del rimodellamento espansivo e, quindi, di misurare accuratamente variazioni nel volume dell'ateroma. L'ultrasonografia intravascolare (IVUS) è l'unica metodica in grado di caratterizzare la placca aterosclerotica *in vivo*, di valutare la parete avventiziale esterna dell'arteria e di analizzare il rimodellamento positivo, noto fattore di rischio per la rottura di placca (34).

Le attuali raccomandazioni internazionali (35) hanno stabilito due parametri fondamentali nella definizione volumetrica della placca aterosclerotica alla valuta-

zione IVUS: il volume totale dell'ateroma (TAV) e il volume percentuale dell'ateroma (PAV), come rappresentato nella *Figura 2*. I bordi del lume e della membrana elastica esterna (EEM) su ogni frame sono usualmente tracciati mediante planimetria manuale. L'area di placca (o plaque area) è definita come l'area occupata tra questi bordi ($EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA}$). Il volume totale dell'ateroma (TAV) è calcolato come la sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame:

$$TAV = \sum (EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})$$

Il volume percentuale dell'ateroma (PAV) è, invece, la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse:

$$PAV = \sum \frac{EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA}}{EEM_{CSA}} \times 100$$

Il volume percentuale dell'ateroma (PAV), piuttosto che il volume totale (TAV), presenta una relazione più consistente con gli outcomes clinici (36) ed è più comunemente utilizzato per valutare l'effetto di nuove terapie farmacologiche sul grado di progressione dell'aterosclerosi coronarica. Questo sottolinea ancora una volta le complesse inter-relazioni che intercorrono tra rimodellamento positivo, “plaque burden” e insorgenza di instabilità di placca. Le placche che mostrano un rimodellamento positivo sono in genere non calcifiche, più “soffici”, con un grande core lipidico e un processo infiammatorio attivo, essendo più frequentemente associate a rottura di placca (a differenza di quelle con rimodellamento negativo più comuni nei pazienti con angina stabile).

L'IVUS convenzionale a scala di grigi presenta, tuttavia, significative limitazioni nella valutazione della composizione della placca aterosclerotica e nell'identificazio-

$$TAV = \sum (EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})$$

$$\% \text{ change in TAV} = \frac{TAV (\text{follow-up}) - TAV (\text{baseline})}{TAV (\text{baseline})} \times 100$$

$$PAV = \sum \frac{(EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})}{EEM_{CSA}} \times 100$$

Figura 2 - Quantificazione volumetrica dell'estensione dell'aterosclerosi coronarica valutata mediante ultrasonografia intravascolare (IVUS). Il volume totale dell'ateroma (TAV) è calcolato come la sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame. Il volume percentuale dell'ateroma (PAV) è, invece, la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse. EEM: external elastic membrane; CSA: cross-sectional area.

ne di alcune lesioni coronariche cosiddette “vulnerabili”, come le placche a cappuccio sottile o TCFA (thin-capped fibroatheromas). Inoltre, le placche aterosclerotiche sono costituite da un mix eterogeneo di calcio, tessuto necrotico, fibroso e fibroadiposo; l'IVUS convenzionale non è in grado di distinguere accuratamente tra piccole aree a differente composizione tissutale (37). L'analisi dello spettro in radiofrequenza del segnale ultrasonico, noto come istologia virtuale o VH-IVUS (virtual-hystology Intravascular Ultrasound), è stato sviluppato per migliorare la caratterizzazione tissutale dell'IVUS, riuscendo a fornire, di conseguenza, informazioni qualitative più dettagliate sulla composizione della placca *in vivo* (38).

Virmani et al. (39) hanno proposto una classificazione istopatologica modificata della placca aterosclerotica stabilita dall'American Heart Association (40), tenendo in considerazione la tipologia di lesione, se “stabile” o “vulnerabile”. Diversi studi isto-

patologici hanno dimostrato come il tipo di placca più comunemente associato alle sindromi coronariche acute e alla morte improvvisa è la TCFA, che consiste di un grande core lipidico con un cappuccio fibroso sottile e un infiltrato infiammatorio costituito soprattutto da macrofagi. Basandosi su questa classificazione istopatologica, le diverse componenti della placca aterosclerotica possono essere distinte *in vivo*, mediante VH-IVUS, come core necrotico (necrotic core [NC], rosso), tessuto fibroadiposo (fibrofatty tissue [FF], verde), tessuto fibroso (fibrotic tissue [FT], verde scuro) e calcio denso (dense calcium [DC], bianco), riprodotte con differenti gradazioni di colore, come mostrato nella *Figura 3*. Sulla base della loro differente composizione, le placche aterosclerotiche coronariche possono così essere classificate in diverse tipologie: ispessimento intimale patologico (pathological intimal thickening, PIT), placche a cappuccio sottile (thin-capped fibroatheromas, TCFA),

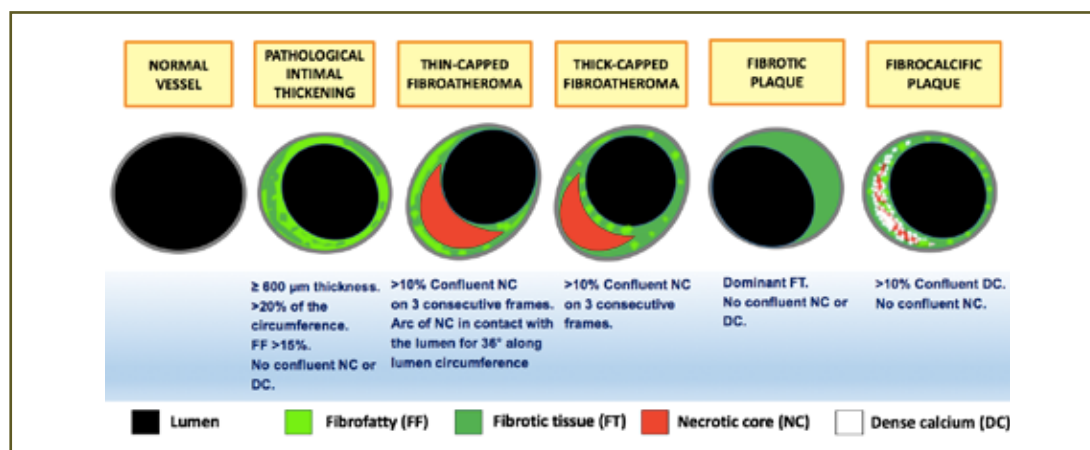


Figura 3 - Classificazione tissutale della placca aterosclerotica mediante ultrasonografia intravascolare con istologia virtuale (VH-IVUS). La valutazione VH-IVUS consente di visualizzare aree di placca a differente composizione tissutale mediante una specifica scala di colori: verde = tessuto fibroadiposo, verde scuro = tessuto fibroso, rosso = core necrotico, bianco = calcio denso. In base alla diversa prevalenza di questi elementi possono essere distinte cinque differenti tipologie di placca: Pathological intimal thickening (PIT), Virtual histology intravascular ultrasound (VH-IVUS) - derived thin-capped fibroatheroma (VH-TCFA), Thick-capped fibroatheroma (ThCFA), Fibrotic plaque, Fibrocalcific plaque.

placche a cappuccio spesso (thick-capped fibroatheromas, ThCFA), placche fibrotiche e fibrocalcifiche (41).

Il PIT è costituito principalmente di FT e FF con meno del 10% di NC confluyente e meno del 10% di DC confluyente. Le VH-TCFAs sono fibroateromi senza evidenza di cappuccio fibroso ($\leq 65 \mu\text{m}$), costituiti usualmente da $>10\%$ di NC confluyente in diretto contatto con il lume vasale in almeno 3 fotogrammi consecutivi (42-44). ThCFA sono fibroateromi ($>10\%$ di NC confluyente in almeno 3 fotogrammi consecutivi) con un cappuccio fibroso ben definito. Le placche fibrotiche sono composte principalmente da tessuto fibroso con $<10\%$ NC confluyente, $<15\%$ di tessuto FF e $<10\%$ di DC confluyente. Le placche fibrocalcifiche sono costituite quasi del tutto da FT e DC con $<10\%$ di NC confluyente.

Diversi studi IVUS hanno fornito risultati contrastanti riguardo la natura dinamica delle lesioni coronariche, documentando in alcuni casi la stabilizzazione e, in altri, la persistenza nel tempo delle placche aterosclerotiche a cappuccio sottile (VH-TCFA). Kubo et al. (45) hanno mostrato che, in una popolazione di pazienti prevalentemente con cardiopatia ischemica cronica, dopo un follow-up medio di 12 mesi, la maggior parte delle VH-TCFA regredivano verso lesioni più stabili (65% in ThCFA e il 10% in placche calcifiche), con una persistenza di TCFA di solo il 25%. Solo le VH-TCFA prossimali in vasi di calibro maggiore con un elevato "plaque burden" andavano incontro a stabilizzazione più raramente. Inoltre, le lesioni classificate come PIT, VH-TCFA, e ThCFA mostrano una significativa progressione in termini di aumento del "plaque burden" e riduzione del lume vasale rispetto alle placche fibrotiche e fibrocalcifiche. Questi dati appaiono parzialmente in contrasto con i dati provenienti da un

sotto-studio del HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) trial (46), in cui Zhao et al. hanno mostrato come le lesioni "non-culprit", in una popolazione di pazienti con STEMI, sono più frequentemente fibroateromi (82% vs 52% nello studio di Kubo), di cui 41% TCFA e 41% ThCFA. In genere, dopo un follow-up medio di 13 mesi, le TCFA tendono a rimanere immutate o ad evolvere verso forme più instabili (con contestuale diminuzione dell'area vasale ed aumento del NC), mentre le lesioni più stabili ad evolvere verso fenotipi più "vulnerabili" (49% delle ThCFA e il 44% delle PIT evolvono verso VH-TCFA).

Sicuramente, il differente contesto clinico in cui si innestano queste evidenze (angina stabile versus sindrome coronarica acuta), con le conseguenti differenze fisiopatologiche in termini di infiammazione di placca, gioca un ruolo dirimente nella diversa storia naturale delle VH-TCFA verso la stabilizzazione o il mantenimento di un fenotipo di "instabilità".

Lo studio GLAGOV

Il trial GLAGOV è uno studio di fase III, multicentrico in doppio cieco, randomizzato controllato verso placebo. Lo studio ha arruolato 968 pazienti con coronaropatia (età media 59,8 anni, 27,8% donne, LDL-C medio 92,5 mg/dL) e in terapia statinica ottimizzata, randomizzati a evolocumab 420 mg in iniezione sottocutanea una volta al mese o placebo per 76 settimane in aggiunta al trattamento con statine (14).

L'endpoint primario di efficacia è stato quello di valutare la variazione nel volume percentuale dell'ateroma (Percent Ateroma Volume, PAV) dopo 78 settimane di trattamento, documentato mediante l'utilizzo dell'IVUS (Figura 4). Gli endpoints

secondari includevano la variazione del volume totale dell'ateroma (Total atheroma volume, TAV) normalizzato e la percentuale di pazienti con regressione di placca (qualsiasi riduzione rispetto al basale).

Al follow-up, i livelli medi di colesterolo LDL sono risultati 36,6 mg/dL e 93,0 mg/dL nel gruppo di trattamento evolocumab e placebo rispettivamente. L'endpoint primario, ossia la variazione nel PAV, è risultato aumentato di 0,05% nel gruppo placebo e ridotto di 0,95% nel braccio evolocumab, con una differenza di -1,0% (95% CI -1,8 a -0,64, $p < 0,001$). L'endpoint secondario, ossia il TAV normalizzato, è risultato diminuito di 0,9 mm³ con placebo e 5,8 mm³ con evolocumab, con una differenza di -4,9 mm³ (95% CI -7,3 a -2,5, $p < 0,001$). La regressione della placca aterosclerotica, in termini di PAV, si è verificata nel 64,3% dei pazienti trattati con evolocumab e nel 47,3% dei pazienti in placebo, con una differenza del 17,0% (95% CI 10,4-23,6; $p < 0,001$). Per quanto concerne il TAV, la regressione si è osservata nel 61,5% dei pazienti in trattamento con evolocumab e nel 48,9% dei pazienti in placebo, con una differenza del 12,5% (95% CI 5,9-19,2; $p < 0,001$).

Un dato interessante riguarda i pazienti che presentano livelli di colesterolo LDL considerati già a target secondo le attuali indicazioni internazionali (LDL-C <70 mg/dL), in cui il trattamento con evolocumab ha consentito di raggiungere livelli medi di colesterolo LDL di 24 mg/dL (con un nadir di 15 mg/dL). A questi dati corrisponde una regressione dell'ateroma in termini di PAV di circa il 2% e una percentuale di pazienti con regressione dell'81% del totale.

I dati provenienti dal GLAGOV trial hanno per la prima volta mostrato un effetto dell'evolocumab nella regressione della placca aterosclerotica (in termini di volume percentuale dell'ateroma). Tuttavia, al-

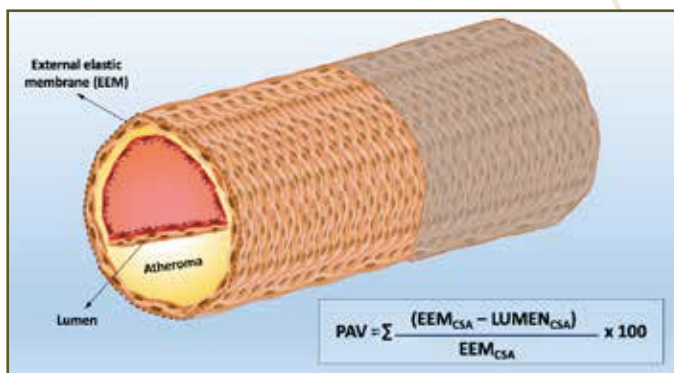


Figura 4 - Valutazione del volume percentuale dell'ateroma (PAV). Considerando come limiti la membrana elastica esterna (EEM) e il margine del lume vasale, il volume percentuale dell'ateroma può essere calcolato come rappresentato in figura, ossia la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse. EEM: external elastic membrane; CSA: cross-sectional area.

cuni aspetti particolari meritano di essere citati e analizzati più in dettaglio. Innanzitutto, la riduzione del PAV risulta essere inferiore rispetto a quella predetta in base ai valori raggiunti di LDL-C. Questo aspetto può essere spiegato dalla presenza di altri fattori di rischio nella popolazione analizzata (tabagismo, diabete e elevato Body Mass Index), che non sono influenzati direttamente dalla riduzione dei valori di LDL e che possono aver mitigato tale effetto. In secondo luogo, è importante esaminare in che modo una riduzione contenuta (dell'1%) del PAV possa tradursi effettivamente in un beneficio clinico in termini di ridotta mortalità cardiovascolare, infarto miocardico e rivascolarizzazione coronarica. Dei dati interessanti derivano da uno studio di Nicholls et al. (36), che hanno analizzato più di 4.000 pazienti con cardiopatia ischemica, arruolati in sei diversi trial, al fine di valutare l'impatto del "plaque burden" e del grado di progressione dell'aterosclerosi coronarica (analizzati mediante IVUS) sugli outcomes cardiovascolari. Circa il 20% dei pazienti analizzati

sono andati incontro a MACCEs, presentando al baseline un PAV maggiore di circa il 3%. Inoltre, al follow-up, questi pazienti presentavano un incremento del PAV dello 0,95%, mentre i pazienti senza eventi mostravano un incremento dello 0,45%. In altre parole, una differenza nel “progression rate” dello 0,5% identifica un gruppo di pazienti a maggior rischio di andare incontro ad un evento cardiovascolare al follow-up. L’impatto reale dell’inibizione del PCSK9 mediato dall’evolocumab sugli outcomes cardiovascolari dovrà essere chiarito in ulteriori studi, anche se, sulla base di questi dati, è plausibile aspettarsi che la riduzione dell’1% del volume percentuale dell’ateroma possa avere un impatto significativo sugli outcomes clinici.

Infine, da valori di colesterolo LDL di 110 mg/dL fino a 20 mg/dL, si osserva una riduzione del volume dell’ateroma fino ai più bassi livelli di LDL-C. Esiste, quindi, una soglia di valori di colesterolo LDL oltre la quale non si osservano ulteriori benefici a scapito della sicurezza di tale condotta terapeutica? I dati del GLAGOV trial mostrano una regressione di placca correlata linearmente ai valori di colesterolo LDL raggiunti. Il paradigma “The lower, the better” sembra configurarsi effettivamente in questa classe di pazienti ad alto rischio, in cui il raggiungimento di valori di colesterolo LDL oltre le attuali indicazioni internazionali potrà tradursi in una ulteriore riduzione del rischio cardiovascolare “residuo”, senza incidere in modo significativo sulla sicurezza (47-48).

In ultimo, una classe di pazienti ad elevato rischio di progressione e, conseguentemente, di eventi clinici avversi è costituita dai pazienti diabetici. In una analisi pre-specificata del FOURIER trial (48), l’evolocumab si è dimostrato capace di ridurre significativamente il rischio di eventi cardiovascolari maggiori (endpoint

primario composto di morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, angina instabile, rivascolarizzazione coronarica) con una efficacia simile nei pazienti con e senza diabete, sebbene si osservi una riduzione assoluta del rischio maggiore nei pazienti diabetici. L’inibizione del PCSK9, inoltre, non ha mostrato incrementare il rischio di diabete di nuova insorgenza (anche nei pazienti con prediabete), né peggiorare la glicemia nei pazienti analizzati. Le linee guida internazionali raccomandano un trattamento ipolipemizzante più intensivo nei pazienti con diabete e malattia aterosclerotica coronarica definita, alla luce dell’elevato rischio di eventi clinici avversi. Alla luce della maggiore riduzione assoluta di rischio in questa popolazione (senza effetti maggiori sul profilo di sicurezza), l’inibizione del PCSK9 costituisce un’opzione terapeutica particolarmente attraente in questa classe di pazienti ad alto rischio.

Stabilizzazione/Regressione di placca e outcomes cardiovascolari

Diversi studi hanno documentato la possibilità di regressione della placca aterosclerotica dopo un trattamento intensivo con farmaci ipolipemizzanti, costituendo la prima reale dimostrazione *in vivo* di questo fenomeno. Di questi, nello studio REVERSAL (Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering), il volume mediano dell’ateroma, a 18 mesi, è risultato diminuito dello 0,4% nel gruppo di pazienti trattato con statina ad alta dose rispetto ad un incremento del 2,7% nel gruppo a dose moderata (19). Nello studio ASTEROID (A Study to Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden) il 63,6% dei pazienti ha presentato una regressione di placca, il volume

totale medio dell'ateroma è risultato diminuito del 7%, con una diminuzione dell'1% del PAV, dopo 24 mesi di trattamento con rosuvastatina (20).

La riduzione del PAV e TAV costituisce un endpoint surrogato, non direttamente indicativo di beneficio clinico. Tuttavia, nonostante la percentuale assoluta di regressione di placca raggiunta sia contenuta, è plausibile aspettarsi che sia comunque sufficiente nel determinare un beneficio clinico. Una delle domande principali in questo ambito è, infatti, se l'effetto degli inibitori del PCSK9 nella riduzione dei livelli di colesterolo LDL e nella regressione di placca si traduca poi in un'effettiva riduzione degli eventi cardiovascolari.

Nicholls et al. (36) hanno analizzato i dati provenienti da sei trial con più di 4.000 pazienti con malattia aterosclerotica coronarica sottoposti ad IVUS al baseline e ad un follow-up medio di 21 mesi, dimostrando per la prima volta una relazione diretta tra elevato "plaque burden" ed un rischio maggiore di eventi cardiovascolari. Inoltre, suddividendo i pazienti in quartili in base al volume percentuale di ateroma al baseline, per ciascuno di questi ultimi si osserva che il rischio di eventi cardiovascolari maggiori è legato al grado di progressione. Nell'analisi multivariata sia l'estensione dell'aterosclerosi al baseline ($p < 0,0001$) che il grado di progressione ($p = 0,005$) sono risultati predittori indipendenti di eventi cardiovascolari. Questi dati sottolineano l'associazione tra progressione della malattia aterosclerotica ed outcomes clinici sfavorevoli, supportando l'utilizzo dell'IVUS in studi clinici (come il GLAGOV trial) per valutare l'impatto di specifici trattamenti farmacologici sulla placca aterosclerotica. In che modo l'effetto dell'evolocumab in termini di riduzione dell'1% del PAV si traduca in un effettivo beneficio clinico dovrà essere chiarito in

ulteriori studi. Tuttavia, il maggior rischio di eventi cardiovascolari che si osserva con il progressivo aumento del "plaque burden" e l'impatto del grado di progressione, congiuntamente alle recenti evidenze derivanti dal FOURIER trial (Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk), sembrano mostrare un effetto diretto della regressione di placca in termini di migliori outcomes clinici (49).

I dati provenienti dal FOURIER trial hanno per la prima volta documentato una relazione diretta tra la riduzione dei livelli di colesterolo LDL (mediata dall'evolocumab) e migliori outcomes cardiovascolari. In questo trial randomizzato controllato, 27.564 pazienti con storia di infarto miocardico, ictus ischemico e vasculopatia periferica sintomatica e valori di C-LDL ≥ 70 mg/dL oppure non-HDL-C ≥ 100 mg/dL in terapia statinica ottimale, sono stati randomizzati ad evolocumab 140 mg ogni 2 settimane (o 420 mg ogni mese) versus placebo. L'endpoint primario era costituito dall'occorrenza di MACCEs, definito come morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, ospedalizzazione per angina instabile o rivascolarizzazione coronarica. Nello studio FOURIER, l'evolocumab ha ridotto i livelli di colesterolo LDL del 60% rispetto al placebo. L'aggiunta dell'evolocumab si è dimostrata capace di ridurre del 15% l'incidenza di MACCEs, con un beneficio che si mantiene in tutti i sottogruppi, inclusi i pazienti in terapia statinica ad elevata intensità con livelli basali di LDL già piuttosto bassi. Inoltre, il grado di riduzione del rischio sembra aumentare con il tempo (dal 12% entro il primo anno al 19% oltre il primo anno). Questi risultati sono in linea con i dati storici riguardo la terapia statinica, che hanno mostrato chiaramente una riduzione di eventi cardiovascolari maggio-

ri che si correla linearmente ad ogni mg/dL di riduzione dei livelli di LDL-C (15).

Tuttavia, la regressione di placca rappresenta solo uno degli elementi che contribuisce a determinare il rischio cardiovascolare residuo nei pazienti con malattia aterosclerotica coronarica. Come anticipato, il “plaque burden”, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale della placca aterosclerotica sono altri importanti fattori che si associano ad una maggiore incidenza di instabilità di placca e outcomes clinici sfavorevoli. Nello studio PROSPECT (Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree), che ha arruolato 697 pazienti con sindrome coronarica acuta sottoposti ad IVUS convenzionale e VH-IVUS sui tre

rami coronarici (al baseline e dopo un follow-up medio di 3.4 anni), l'area del lume $\leq 4 \text{ mm}^2$, il VH-TCFA e un “plaque burden” $\geq 70\%$ in lesioni “non-culprit” sono risultati predittori indipendenti di MACCEs (42). Due ulteriori studi, il VIVA (Virtual Histology in Vulnerable Atherosclerosis) study (43) e l'ATHEROREMO-IVUS (European Collaborative Project on Inflammation and Vascular Wall Remodeling in Atherosclerosis - Intravascular Ultrasound) study (44), con end-point combinato di morte, infarto miocardico e rivascolarizzazione coronarica non programmata, hanno confermato il valore predittivo indipendente del VH-TCFA e dell'elevato “plaque burden” nell'occorrenza di MACCEs.

Conclusioni

Gli anticorpi anti-PCSK9 si sono dimostrati capaci di ridurre i livelli di colesterolo LDL ai valori più bassi mai raggiunti da una terapia ipolipemizzante ottimale, con un buon profilo di sicurezza. Le evidenze derivanti dal GLAGOV trial hanno mostrato anche un effetto additivo sulla regressione della placca aterosclerotica rispetto al trattamento con statine. Tuttavia, altri fattori, come il “plaque burden”, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale della placca aterosclerotica, contribuiscono nel determinare il rischio cardiovascolare “residuo” nei pazienti con cardiopatia ischemica. L'aterosclerosi può essere considerata a tutti gli effetti un processo infiammatorio cronico, con episodi di ischemia acuta che spesso si verificano nell'ambito della rottura/erosione di una placca ricca di lipidi, infiammata e con elementi di necrosi. L'effetto degli anticorpi anti-PCSK9 nella stabilizzazione di placca andrà valutato in ulteriori studi, sebbene le iniziali evidenze sembrano mostrare un effetto anche in questa direzione.

Glossario

PCSK9 = Proprotein convertase subtilisin kexin type 9: proteina circolante che lega il recettore per le LDL espresso sulla superficie degli epatociti, portando alla distruzione del recettore e impedendo così il suo “recycling” intra-cellulare.

OCT = Optical Coherence Tomography: tecnica di imaging che utilizza una luce non visibile nello spettro dell'infrarosso, in grado di scannerizzare un intero vaso coronarico in circa 3 secondi con una risoluzione di circa 10 micron. L'OCT consente, inoltre, di quantificare alcune componenti della placca aterosclerotica, come lo spessore del cappuccio fibroso, con un'accuratezza maggiore rispetto ad altre tecniche di imaging intravascolare.

IVUS = Intravascular Ultrasonography: tecnica di imaging che, attraverso l'utilizzo degli ultrasuoni, permette lo studio dei vasi coronarici epicardici mediante valutazione ecografica intraluminale. Questa tecnica, quindi, offre un'immagine diretta e in tempo reale dell'ateroma, fornendo una prospettiva tomografica delle coronarie e della placca aterosclerotica superiore rispetto alla semplice angiografia.

TAV = Total Atheroma Volume: sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame della valutazione IVUS.

PAV = Percent Atheroma Volume: proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse, valutato mediante IVUS.

RIASSUNTO

La proproteina convertasi subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) è una proteina circolante che modula il “recycling” del recettore delle lipoproteine a bassa densità (Low Density Lipoprotein o LDL) esposto sulla membrana degli epatociti, favorendone la degradazione lisosomiale. La diretta conseguenza di questa azione è la diminuzione del numero di recettori esposti, determinando in tal modo una minore clearance delle LDL circolanti. Recenti evidenze hanno documentato un ruolo del PCSK9 nella progressione dell'aterosclerosi coronarica attraverso la regolazione del metabolismo del colesterolo, la risposta infiammatoria e la stabilizzazione della placca aterosclerotica.

Gli anticorpi anti-PCSK9 sono emersi come un nuovo affascinante strumento terapeutico nel trattamento dell'ipercolesterolemia, avendo un ruolo anche nella stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica. In questa rassegna discuteremo l'effetto degli anticorpi anti-PCSK9 nella restaurazione vascolare attraverso le nuove tecniche di imaging intravascolare e il suo impatto sugli outcomes clinici. Per primo, descriveremo l'effetto dei farmaci ipolipidemizzanti sulla composizione ed estensione dell'aterosclerosi coronarica. Discuteremo, in maniera estesa, le nuove acquisizioni nell'ambito della stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica, in particolare i determinanti della regressione del “plaque volume” attraverso l'ultrasonografia intravascolare (IVUS), la loro rilevanza clinica e il ruolo emergente degli anticorpi anti-PCSK9 sulla progressione dell'aterosclerosi coronarica nei pazienti già in terapia con statine. Infatti, un ampio e recente studio clinico, il GLAGOV trial, ha dimostrato che l'aggiunta dell'Evolocumab (un anticorpo anti-PCSK9) al trattamento con statine determina una riduzione dell'1% del volume percentuale dell'ateroma (PAV) dopo 76 settimane, in pazienti con documentata aterosclerosi coronarica. Infine, presenteremo una breve panoramica riguardante l'impatto dell'inibizione del PCSK9 sugli outcomes cardiovascolari. L'effetto complessivo e la rilevanza clinica della riduzione del volume dell'ateroma e della regressione di placca dovranno essere approfonditi in ulteriori studi.

Parole chiave: *aterosclerosi coronarica, anticorpi anti-PCSK9, regressione di placca, tecniche di imaging intravascolare, placca vulnerabile, infarto miocardico.*

Bibliografia

- Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54: 2129-2138.
- Crea F, Liuzzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 1-11.
- Blankenhorn DH, Hodis HN. George Lyman Duff Memorial Lecture. Arterial imaging and atherosclerosis reversal. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14: 177-192.
- Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation.* 2004; 109 (23 Suppl. 1): III39-43.
- Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet.* 2016; 388: 2532-2561.
- Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med.* 2015; 372: 2387-2397.
- Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2017; 135: e146-e603.
- Jones PH, Nair R, Thakker KM. Prevalence of dyslipidemia and lipid goal attainment in statin-treated subjects from 3 data sources: a retrospective analysis. *J Am Heart Assoc.* 2012; 1: e001800.
- Huijgen R, Kindt I, Verhoeven SB, et al. Two years after molecular diagnosis of familial hypercholesterolemia: majority on cholesterol-lowering treatment but a minority reaches treatment goal. *PLoS One.* 2010; 5: e9220.
- Vandenberg BF, Robinson J. Management of the patient with statin intolerance. *Curr Atheroscler Rep.* 2010; 12: 48-57.
- Jernberg T, Hasvold P, Henriksson M, et al. Cardiovascular risk in post-myocardial infarction patients: nationwide real world data demonstrate the importance of a long-term perspective. *Eur Heart J.* 2015; 36: 1163-1170.
- Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003; 34: 154-156.
- Ference BA, Robinson JG, Brook RD, et al. Variation in PCSK9 and HMGCR and Risk of Cardiovascular Disease and Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375: 2144-2153.
- Nicholls SJ, Puri R, Anderson T, et al. Effect of Evolocumab on Progression of Coronary Disease.

- ase in Statin-Treated Patients: The GLAGOV Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016; 316: 2373-2384.
15. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.
 16. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37: 2999-3058.
 17. Rosenson RS, Brown AS. Statin use in acute coronary syndromes: cellular mechanisms and clinical evidence. *Curr Opin Lipidol*. 2002; 13: 625-630.
 18. Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2078-2087.
 19. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004; 291: 1071-1080.
 20. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006; 295: 1556-1565.
 21. Kataoka Y, Wolski K, Balog C, et al. Progression of coronary atherosclerosis in stable patients with ultrasonic features of high-risk plaques. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014; 15: 1035-1041.
 22. Kataoka Y, Puri R, Hammadah M, et al. Frequency-domain optical coherence tomographic analysis of plaque microstructures at nonculprit narrowings in patients receiving potent statin therapy. *Am J Cardiol*. 2014; 114: 549-554.
 23. Komukai K, Kubo T, Kitabata H, et al. Effect of atorvastatin therapy on fibrous cap thickness in coronary atherosclerotic plaque as assessed by optical coherence tomography: the EASY-FIT study. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64: 2207-2217.
 24. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015; 372: 2387-2397.
 25. Tsujita K, Sugiyama S, Sumida H, et al. Impact of Dual Lipid-Lowering Strategy With Ezetimibe and Atorvastatin on Coronary Plaque Regression in Patients With Percutaneous Coronary Intervention: The Multicenter Randomized Controlled PRECISE-IVUS Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 66: 495-507.
 26. Giugliano RP, Sabatine MS. Are PCSK9 Inhibitors the Next Breakthrough in the Cardiovascular Field? *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 2638-2651.
 27. Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-Garcia HM, et al. PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis*. 2016; 248: 117-122.
 28. Kuhnast S, van der Hoorn JW, Pieterman EJ, et al. Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin. *J Lipid Res*. 2014; 55: 2103-2112.
 29. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2015; 372: 1489-1499.
 30. Ambrose JA, Martinez EE. A new paradigm for plaque stabilization. *Circulation*. 2002; 105: 2000-2004.
 31. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003; 290: 2292-2300.
 32. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*. 2003; 108: 1664-1672.
 33. Varnava AM, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation*. 2002; 105: 939-943.
 34. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, et al. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2000; 101: 598-603.
 35. Mintz GS, Garcia-Garcia HM, Nicholls SJ, et al. Clinical expert consensus document on standards for acquisition, measurement and reporting of intravascular ultrasound regression/progression studies. *EuroIntervention*. 2011; 6: 1123-1130.
 36. Nicholls SJ, Hsu A, Wolski K, et al. Intravascular ultrasound-derived measures of coronary atherosclerotic plaque burden and clinical outcome. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 2399-2407.
 37. Fujii K, Hao H, Ohyanagi M, Masuyama T. Intracoronary imaging for detecting vulnerable plaque. *Circ J*. 2013; 77: 588-595.
 38. Sinclair H, Veerasamy M, Bourantas C, et al. The Role of Virtual Histology Intravascular Ultrasound in the Identification of Coronary Artery Plaque Vulnerability in Acute Coronary Syndromes. *Cardiol Rev*. 2016; 24: 303-309.
 39. 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: 1262-1275.

40. 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. *Circulation*. 1995; 92: 1355-1374.
41. Konig A, Margolis MP, Virmani R, et al. Technology insight: in vivo coronary plaque classification by intravascular ultrasonography radiofrequency analysis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008; 5: 219-229.
42. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 364: 226-235.
43. Calvert PA, Obaid DR, O'Sullivan M, et al. Association between IVUS findings and adverse outcomes in patients with coronary artery disease: the VIVA (VH-IVUS in Vulnerable Atherosclerosis) Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011; 4: 894-901.
44. Cheng JM, Garcia-Garcia HM, de Boer SP, et al. *In vivo* detection of high-risk coronary plaques by radiofrequency intravascular ultrasound and cardiovascular outcome: results of the ATHEREMO-IVUS study. *Eur Heart J*. 2014; 35: 639-647.
45. Kubo T, Maehara A, Mintz GS, et al. The dynamic nature of coronary artery lesion morphology assessed by serial virtual histology intravascular ultrasound tissue characterization. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 1590-1597.
46. Zhao Z, Witzendichler B, Mintz GS, et al. Dynamic nature of nonculprit coronary artery lesion morphology in STEMI: a serial IVUS analysis from the HORIZONS-AMI trial. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013; 6: 86-95.
47. Giugliano RP, Mach F, Zavitz K, et al. Cognitive Function in a Randomized Trial of Evolocumab. *N Engl J Med*. 2017; 377: 633-643.
48. Sabatine MS, Leiter LA, Wiviott SD, et al. Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017 Sep 14.
49. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.