

## LO STUDIO OPPOSITES

Studio prospettico, multicentrico, caso-controllo mediante OCT (Optical Coherence Tomography) sulla prevalenza dei siti trombogenici e dei siti vulnerabili per migliorare le conoscenze sui meccanismi dell'instabilità coronarica

*F. Prati, E. Ammirati\*, A. Maseri\*\**

Cardiologia Interventistica,  
Azienda Ospedaliera San Giovanni-Addolorata di Roma.  
Centro per la Lotta contro l'Infarto Fondazione Onlus di Roma.  
\* Università Vita-Salute San Raffaele di Milano.  
\*\*Fondazione per il TUO cuore - HCF Onlus di Firenze.

Non vi è dubbio che l'aver individuato negli anni '50, mediante lo studio Framingham, i fattori di rischio cardiovascolare, rappresenti un traguardo per la cardiologia. Inoltre, la coesistenza di più fattori di rischio aumenta ulteriormente la possibilità di andare incontro all'infarto, per il ruolo sinergico che questi sono in grado di generare. Se avere più fattori di rischio aumenta di molto il rischio di infarto, la completa assenza degli stessi, purtroppo, non ne annulla il rischio. Le due affermazioni non si contraddicono.

Purtroppo è molto difficile prevenire gli eventi infartuali poiché rimangono da chiarire molti aspetti sulla fisiopatologia dell'IMA<sup>1,2</sup>. È a tutti noto che la trombosi locale rappresenta, nella grande maggioranza dei casi, la causa finale di una complessa serie di eventi che causano l'IMA<sup>2,3</sup>. L'ulcerazione della placca aterosclerotica contenente un pool lipidico, e pertanto la rottura del cappuccio fibroso della placca, è un causa frequente di trombosi coronarica, ma non rappresenta l'unico meccanismo<sup>4,5,6,7,8,9</sup>.

Negli ultimi anni, studi condotti con biomarcatori hanno documentato la presenza di un'attivazione sistemica dell'albero coronarico in pazienti con IMA<sup>4,5,6,7,8</sup>. Si è compreso che l'infiammazione ha un ruolo importante nell'instabilizzazione della placca aterosclerotica, e più genericamente nella genesi della trombosi coronarica, e che possono esistere più siti trombogenici nell'albero coronarico, quindi più siti vulnerabili<sup>9,10,11</sup>.

Obiettivo dello studio OPPOSITES è l'identificazione di una serie di caratteristiche distintive, morfologiche, funzionali, biomorali e cliniche, in grado di definire sottogruppi di pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA) fenotipicamente omogenei tra loro e per i quali sia possibile ipotizzare meccanismi e/o comportamenti patogenetici peculiari, specifici. Si vogliono ricercare caratteristiche distintive tra pazienti apparentemente simili, senza voler individuare solo un comune denominatore che possa produrre differenze statisticamente significative. Lo studio OPPOSITES è stato concepito per descrivere in maniera si-

stematica gli elementi morfologici-funzionali delle placche aterosclerotiche a livello dell'albero coronarico e gli elementi bioumorali che caratterizzano due popolazioni con stessa patologia e comportamento clinico diverso: sindromi coronariche acute e cardiopatia ischemica cronica.

Lo studio applica l'Optical Coherence Tomography (OCT), una tecnica morfologica sicura e riproducibile<sup>12,13</sup>, valuta marker bioumorali ed analizza la composizione istologica del trombo dell'arteria responsabile dell'infarto. L'approccio è inoltre molto innovativo poiché prevede il confronto tra situazioni cliniche che possiamo considerare agli estremi opposti per le manifestazioni dell'aterosclerosi coronarica (massima stabilità ed instabilità).

Come primo obiettivo, lo studio si propone di valutare in vivo se la propensione a sviluppare trombosi intracoronarica (siti trombogenici) (fig. 1) avvenga in più siti nei pazienti con primo STEMI ed in quelli con una recidiva di SCA entro un anno, rispetto a quelli con cardiopatia ischemica cronica. Si propone inoltre di valutare se le lesioni con caratteristiche morfologiche di vulnerabilità (siti vulnerabili) (fig. 1), precedentemente descritte negli studi autoptici, siano più frequenti nei pazienti con primo IMA ed in quelli con recidiva di IMA entro un anno, rispetto a quelli con cardiopatia ischemica cronica.

Lo studio è multicentrico, prospettico, tipo caso-controllo con intervento. Complessivamente vengono arruolati 120 pazienti di sesso maschile: 60 con infarto miocardico STEMI come prima manifestazione (Gruppo I), 30 con infarto miocardico con recidiva (Gruppo R) e 30 con la forma stabile di angina da almeno 3 anni (Gruppo S).

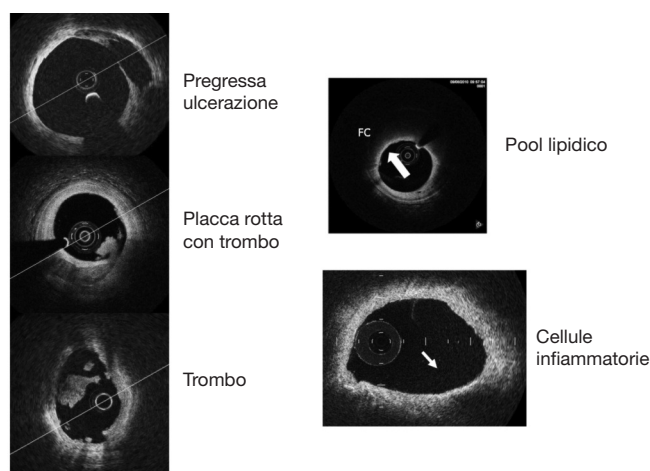


Fig. 1. Esempi di placche trombogene (ulcerazione con e senza trombo e trombosi in assenza di ulcerazione, visualizzate nel pannello a sinistra) e di placche vulnerabili (pool lipidico superficiale, presenza di cellule infiammatorie, visualizzate nel pannello a destra).

### I tanti quesiti cui lo studio OPPOSITES può dare una risposta

1) *Si possono instabilizzare contemporaneamente più lesioni nei soggetti con sindrome coronarica acuta?*

Studi pubblicati anni addietro hanno evidenziato che nello STEMI si possono riscontrare, oltre alla lesione colpevole, anche altri siti di trombosi murale fresca. Siti trombogenici multipli suggerirebbero uno stimolo trombogenico generalizzato di cui i siti rappresentano gli epicentri, piuttosto che singole placche vulnerabili che si rompono simultaneamente.

Tuttavia, nella pratica clinica si identifica abitualmente una sola lesione responsabile del quadro clinico. La diagnosi si ottiene correlando il quadro elettrocardiografico ed il rilievo di ipo-acinesie distrettuali all'angiografia, che tipicamente evidenzia una stenosi a contorni marcatamente irregolari e/o una "haziness" suggestiva di trombosi. L'osservazione che nello STEMI si possono riscontrare, oltre alla lesione colpevole, anche altri siti con trombosi fresca scaturisce da studi angiografici ed anatomico-patologici<sup>14,15,16,17</sup>. Goldstein et al. hanno osservato nei pazienti con STEMI un'alta percentuale di placche di tipo complesso, che si attestava intorno al 40% dei casi. Inoltre, il gruppo con più placche di tipo complesso aveva, ad un anno, un tasso di eventi coronarici acuti significativamente più alto rispetto al gruppo di confronto. Al concetto di malattia multifocale nei soggetti con infarto miocardico hanno contribuito anche Guazzi et al.<sup>18</sup> gli autori hanno notato che nei soggetti con infarto miocardico acuto si verifica una rapida progressione sia delle lesioni culprit che di quelle non culprit. Questa marcata e rapida evolutività delle dimensioni della placca aterosclerotica andava ricondotta a processi di accrescimento per trombosi e a fasi di regressione per la lisi di formazioni trombotiche pre-esistenti. Ovviamente queste variazioni nelle dimensioni della placca riconoscevano come substrato l'instabilità di lesioni complicate da sovrapposizione trombotica. Questi studi presentano tuttavia dei limiti. L'angiografia ha infatti una bassa accuratezza nell'identificare le lesioni "complicate", non essendo in grado di studiare la placca oltre al lume. Tecniche intra-coronarie morfologiche studiano la placca oltre che il lume vasale, ed offrono informazioni molto più complete dell'angiografia. Tra queste, l'OCT è la più promettente, come già ricordato.

Secondo la nostra casistica, prevalentemente composta da casi studiati con OCT in un solo ramo coronarico, la presenza di trombi freschi nell'albero coronarico in sedi non culprit si verifica raramente, mentre si osservano più spesso placche con aspetto ulcerato (ma senza trombo). Solo in un caso su oltre 50 con SCA si sono riscontrate due lesioni culprit con un trombo sovrapposto.

## 2) *Le ulcerazioni di placca esprimono un'instabilità acuta?*

Hong et al.<sup>19</sup> hanno confrontato con IVUS la morfologia di placca in pazienti con infarto miocardico acuto ed angina stabile, nei 3 rami coronarici principali in un'ampia popolazione di 235 pazienti: 122 con infarto miocardico acuto e 113 con angina pectoris stabile. La rottura di placca nei punti "non culprit" e "non target" si verificava rispettivamente nel 17% dei pazienti con infarto miocardico acuto e nel 5% dei pazienti con angina stabile. Infine, rotture multiple di placca si osservavano nel 20% dei pazienti con infarto miocardico acuto e nel 6% dei soggetti con angina pectoris. Dati preliminari ottenuti con la tecnica OCT aiutano a comprendere le preziose informazioni offerte dall'IVUS. L'OCT, infatti, consente di studiare con grande accuratezza anche le sovrapposizioni trombotiche della placche complicate, con aspetto ulcerativo, chiarendo pertanto se l'ulcerazione di placca è l'espressione di una instabilizzazione acuta della placca oppure il segno di un processo progressivo.

Relativamente agli aspetti ulcerativi, si può affermare che l'OCT conferma quando osservato negli ultimi anni con l'IVUS e che lesioni ulcerate, in gran parte relesi responsabili di trombosi coronarica silente da un punto di vista clinico, si osservano nell'albero coronarico con una certa frequenza. L'OCT, che a differenza delle altre metodiche studia il trombo con accuratezza, mostra come queste lesioni coronariche ulcerate non presentino una sovrapposizione del trombo, e non siano pertanto "attive", potenzialmente in grado di causare una SCA. In altri termini, le ulcerazioni di placca, già evidenziate dall'IVUS, indicano episodi pregressi di instabilità di placca, che potrebbero essersi verificati anni addietro. La ricerca di lesioni con queste caratteristiche, le cosiddette placche trombogeniche, è un aspetto importante dello studio OPPOSITES, che deve, in tal modo, dare una stima dei processi di instabilità di placca (ocorsi per un meccanismo di ulcerazione di un pool lipidico), tutti potenzialmente in grado di generare una SCA. Mediante la valutazione completa dell'albero coronarico in soggetti con fenotipi diversi, si potranno individuare i soggetti il cui rischio di sviluppare una SCA è più marcato.

Il nostro gruppo ha recentemente osservato che le ulcerazioni di placca possono mantenersi stabili a lungo. Un studio aneddótico, condotto in modo seriato mediante OCT, mostrava un'ulcerazione di placca senza segni di trombosi in un soggetto con SCA in una sede diversa dalla lesione culprit. A 12 mesi di distanza dalla prima osservazione, l'immagine OCT era del tutto inalterata, mostrando la stessa ulcerazione.

3) *Qual è il significato dei trombi che appaiono costituiti da strati di età diversa, sovrapposti, indicativi di stimoli trombotici recidivanti? O, in altri termini, qual è il destino dei trombi più vecchi, organizzati?*

Questo aspetto è stato poco studiato, infatti né le caratteristiche morfologiche delle placche sottostanti, né la loro associazione a situazioni cliniche (tra cui l'angina pre-infartuale) e funzionali sono state ancora esplorate.

Se le lesioni con ulcerazione e senza trombo sembrano essere dei punti dell'albero coronarico con i caratteri della stabilità, non si può fare la stessa affermazione per le placche caratterizzate dalla presenza di un trombo organizzato, presente da giorni e forse mesi. Dati preliminari ottenuti con l'OCT lasciano ipotizzare che su trombi più vecchi sedimentino nuove formazioni trombotiche, lesioni culprit di SCA. In uno studio effettuato dal nostro gruppo, in collaborazione con l'anatomia patologica di Pavia, su soggetti con SCA trattati mediante angioplastica (dati non ancora pubblicati), si è valutato l'aspetto istologico dei prelievi di materiale trombotico ottenuti mediante trombo-aspirazione. Coerentemente con quanto emerso fino ad ora con i dati OCT, l'analisi istologica ha evidenziato in più casi il coesistere di trombi freschi e vecchi (organizzati).

Nello studio OPPOSITES si vuole stabilire la frequenza con cui la lesione colpevole presenta stratificazione di trombi aventi età diversa. Stabilire tale frequenza nei trombi colpevoli sicuramente unici, in quelli associati ad altri siti trombotici e nei siti trombotici multipli. Stabilire, infine, se la presenza di stratificazione del trombo si associ ad angina preinfartuale.

4) *Qual è il contributo dell'infiammazione locale?*

Anche il contributo dell'infiammazione locale nella genesi delle SCA è un aspetto importante che potrà essere chiarito dallo studio OPPOSITES. Buffon et

al.<sup>20</sup> hanno dimostrato la presenza di un processo infiammatorio che coinvolge l'intero albero coronarico. Secondo gli autori, nei soggetti con angina instabile è presente un'attivazione dei neutrofili diffusa, ad esprimere il coinvolgimento infiammatorio dell'albero coronarico in toto. Il ruolo della componente infiammatoria focale va però meglio chiarito. A tal proposito, nello studio OPPOSITES si applicheranno software per meglio studiare la presenza di cellule infiammatorie locali.

##### 5) Qual è il ruolo dell'erosione endoteliale?

La rottura di una placca è il substrato anatomico più frequentemente osservato sotto le lesioni colpevoli (in circa il 70% dei casi); negli altri casi viene postulata un'erosione endoteliale, non dimostrabile facilmente, dato lo spessore minimo dell'endotelio.

Tuttavia, la rottura della placca non appare di per sé uno stimolo trombotico, né sufficiente (perché si riscontra anche in pazienti stabili o deceduti per cause non cardiache) né necessario (perché sotto alcune lesioni colpevoli non si riscontra una rottura di placca). Analogamente, un'erosione endoteliale di per sé non appare uno stimolo sufficiente. La denudazione dell'endotelio nei modelli animali non causa la formazione di un trombo, ma viene prontamente ricoperta da uno strato di piastrine che aderiscono al sottoendotelio. Inoltre, le fessure di placca e la progressione delle lesioni talvolta non si associano a SCA. Placche "vulnerabili", precursori della lesione colpevole, definite come formate da un pool lipidico ricoperto da una parete sottile (50-70 micron), sono identificabili solo nella metà delle lesioni colpevoli e rappresentano solo il 5% delle lesioni simili identificate nella rilevazione basale dello studio PROSPECT<sup>21</sup>.

Va comunque precisato che lo studio della trombosi coronarica in assenza di ulcerazione è di difficile acquisizione persino per una metodica ad alta risoluzione come l'OCT. La diagnosi di erosione viene infatti effettuata per esclusione, e solo in presenza di trombosi, ovvero quando al di sotto del trombo non si apprezza una placca lipidica fissurata.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Maseri A. Inflammation, atherosclerosis, and ischemic events - exploring the hidden side of the moon. *N Engl J Med* 1997; 336(14):1014-16
- 2) Maseri A, Fuster V. Is there a vulnerable plaque? *Circulation* 2003; 107(16):2068-71
- 3) Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105(9):1135-43
- 4) Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G et al. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002; 347(1):5-12
- 5) Ammirati E, Vermi AC, Cianflone D et al. Expansion of T-cell receptor zeta dim effector T cells in acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(12):2305-11
- 6) Liuzzo G, Biasucci LM, Trota G et al. Unusual CD4+CD28null T lymphocytes and recurrence of acute coronary events. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(15):1450-58
- 7) Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331(7):417-424

- 8) *Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G et al.* Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996; 94(5):874-877
- 9) *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(14):1664-72
- 10) *Naghavi M, Libby P, Falk E et al.* From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation* 2003; 108(15):1772-78
- 11) *Casscells W, Naghavi M, Willerson JT.* Vulnerable atherosclerotic plaque: a multifocal disease. *Circulation* 2003; 107(16):2072-75
- 12) *Prati F, Regar E, Mintz GS et al.* Expert review document on methodology, terminology, and clinical applications of optical coherence tomography: physical principles, methodology of image acquisition, and clinical application for assessment of coronary arteries and atherosclerosis. *Eur Heart J* 2010; 31(4):401-415
- 13) *Imola F, Mallus MT, Ramazzotti V et al.* Safety and feasibility of frequency domain optical coherence tomography to guide decision making in percutaneous coronary intervention. *EuroIntervention* 2010; 6(5):575-581
- 14) *Goldstein JA, Demetriou D, Grines C et al.* Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2000; 343:915-922
- 15) *Davies MJ, Thomas A.* Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med* 1984; 310:1137-40
- 16) *Roberts WC, Buja LM.* The frequency and significance of coronary arterial thrombi and other observations in fatal acute myocardial infarction: a study of 107 necropsy patients. *Am J Med* 1972; 52:425-443
- 17) *Falk E.* Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death: autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation* 1985; 71:699-708
- 18) *Guazzi M, Bussotti M, Grancini L et al.* Evidence of Multifocal Activity of Coronary Disease in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 1997; 96:1145-51
- 19) *Hong MK, Mintz GS, Lee CW et al.* Comparison of coronary plaque rupture between stable angina and acute myocardial infarction: a three-vessel intravascular ultrasound study in 235 patients. *Circulation* 2004; 110:928-933
- 20) *Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G et al.* Widespread Coronary Inflammation in Unstable Angina. *N Engl J Med* 2003; 348:1931
- 21) *Stone GW, Maehara A, Lansky AJ et al.* A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011; 364(3):226-235