



FACULTÉ
DE PHARMACIE
DE PARIS



La Lp-PLA₂, marqueur d'inflammation vasculaire et de vulnérabilité de la plaque d'athérosclérose

Dominique BONNEFONT-ROUSSELOT

Service de Biochimie Métabolique,
Hôpitaux universitaires Pitié-Salpêtrière-Charles Foix

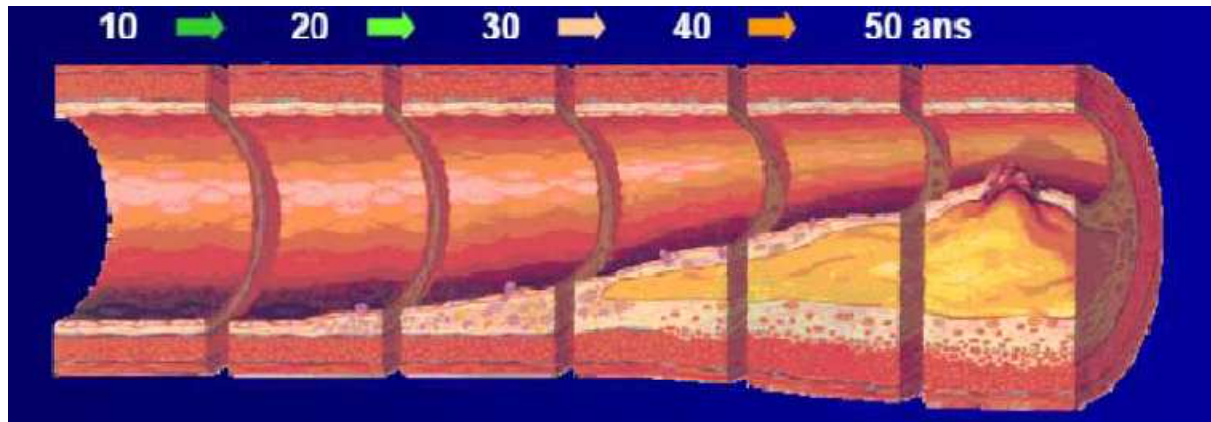
Unité pédagogique de Biochimie;
Unité de Technologies Chimiques et Biologiques pour la Santé,
CNRS UMR 8258 - Inserm U1022
Faculté de Pharmacie de Paris

PLAN

- ◎ INTRODUCTION
- ◎ MÉCANISME D'ACTION DE LA Lp-PLA₂
- ◎ Lp-PLA₂ ET VULNÉRABILITÉ DE LA PLAQUE
- ◎ INTÉRÊT EN PATHOLOGIE CARDIOVASCULAIRE
- ◎ DISCUSSION/CONCLUSIONS

INTRODUCTION (1/3)

- **Athérosclérose : maladie chronique, évolutive et inflammatoire**



- **Identification de nouveaux biomarqueurs (patients à risque intermédiaire) →**
 - Meilleure stratification des patients
 - Développement de stratégies thérapeutiques ciblées
- **Phénomènes d'oxydation impliqués dans l'athérosclérose**
 - Rôle des lipoprotéines (LDL) oxydées
 - Phospholipides oxydés ⇒ propriétés inflammatoires

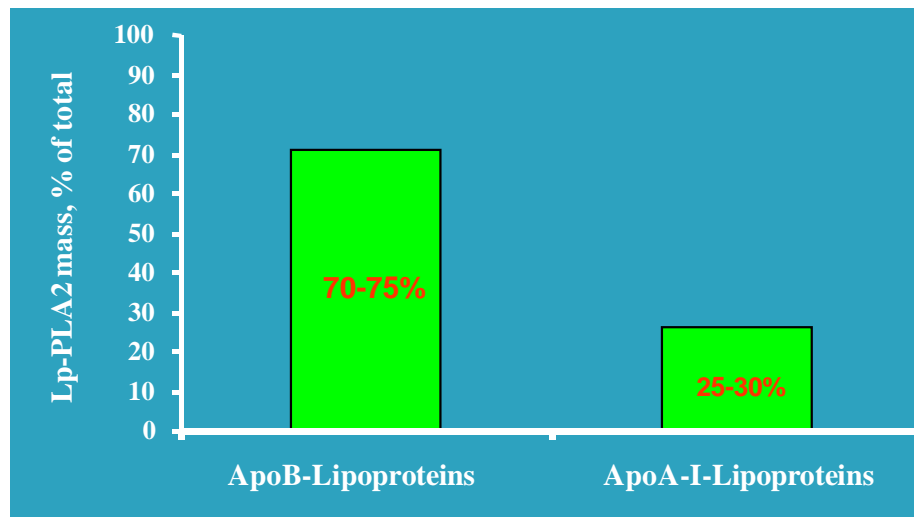
INTRODUCTION (2/3)

- **Phospholipases A₂ = PLA₂** (Lambeau et Gelb, *Annu. Rev. Biochem.*, 2008; 77: 495-520; Ait-Oufella *et al.*, *Med. Sci.* 2014; 30 526-531)
 - Famille d'enzymes hydrolysant les acides gras des glycérophospholipides en position sn2
 - Impliquées dans le métabolisme lipidique et la réponse inflammatoire
 - Cytoplasmiques ou secrétées sous forme libre (sPLA₂) ou liée aux lipoprotéines (Lp-PLA₂)
 - **Lp-PLA₂** (ou PLA2G7):
 - Enzyme de 45 kDa (441 AA), calcium-indépendante, antérieurement connue sous le nom de **PAF-acétylhydrolase*** (PAF-AH) (McIntyre *et al.*, *J. Lipid Res.* 2009; 50: S255-S259)
 - Phospholipase A₂ impliquée dans le métabolisme des phospholipides oxydés à courte chaîne
 - Produite et sécrétée par les monocytes/macrophages et lymphocytes T
 - Gène *PLA2G7*, chromosome 6p21.2-p12
- * PAF: *platelet activating factor* (acétyl-glycéryl-éther-phosphorylcholine)

INTRODUCTION (3/3)

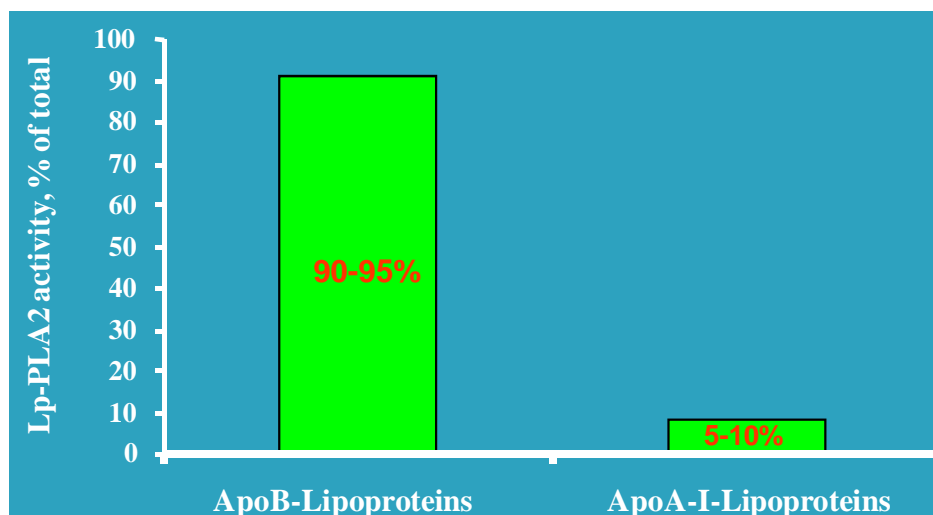
- **Évocation d'un rôle pro-athérogène de la Lp-PLA₂**
 - Majoritairement associée aux lipoprotéines athérogènes (LDL)
 - Produit essentiellement de la lysophosphatidylcholine → recrutement monocytaire et dégranulation des PNN
 - Exprimée majoritairement dans le centre nécrotique des plaques d'athérome
 - WOSCOPS (*West of Scotland coronary prevention study*): Lp-PLA₂ associée aux événements coronariens chez des hommes hypercholestérolémiques (Packard *et al.* *New Engl J Med* 2000; 343: 1148-1155)

- **Lp-PLA₂: retrouvée liée aux lipoprotéines circulantes, essentiellement aux lipoprotéines à apoB**



Masse de la Lp-PLA₂

Gazi I *et al.* *Clin Chem* 2005; 51: 2264-2273



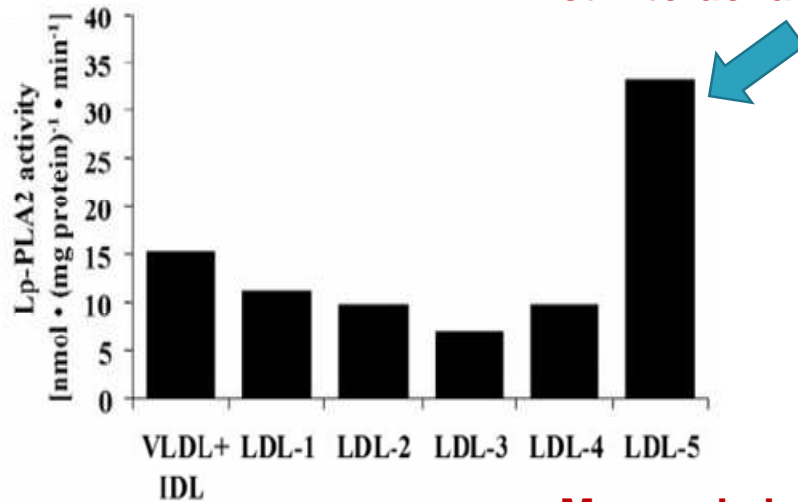
Activité de la Lp-PLA₂

Tselepis AD *et al.* *ATVB* 1995; 15: 1764-1773

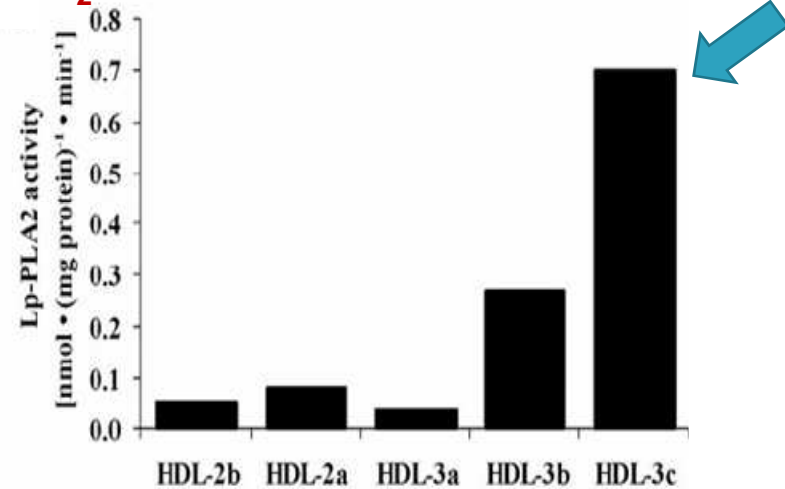
- Plus précisément, Lp-PLA₂ liée aux fractions les plus denses des lipoprotéines circulantes

ApoB-containing lipoproteins

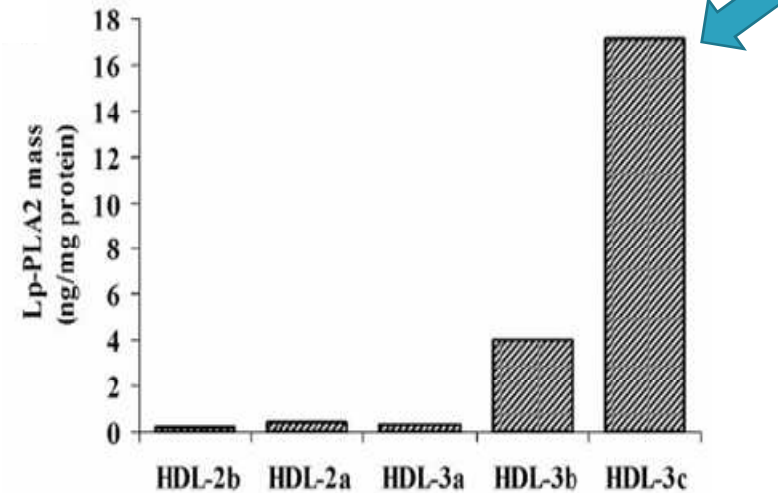
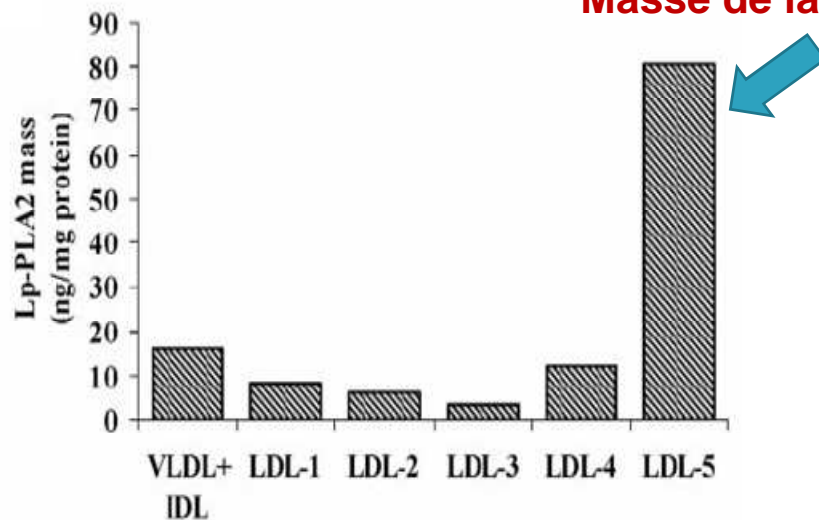
Activité de la Lp-PLA₂



ApoA-I-containing lipoproteins



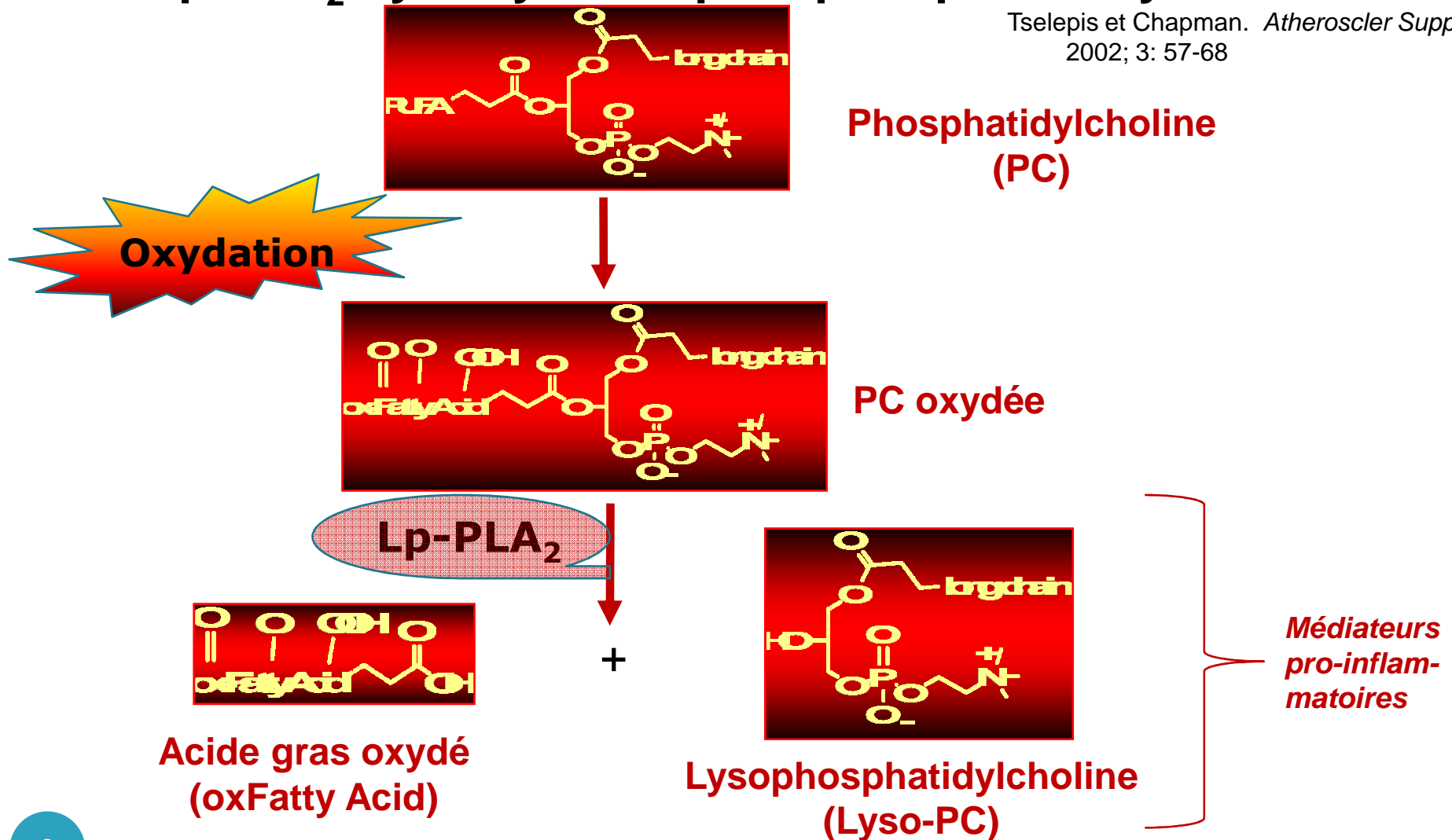
Masse de la Lp-PLA₂

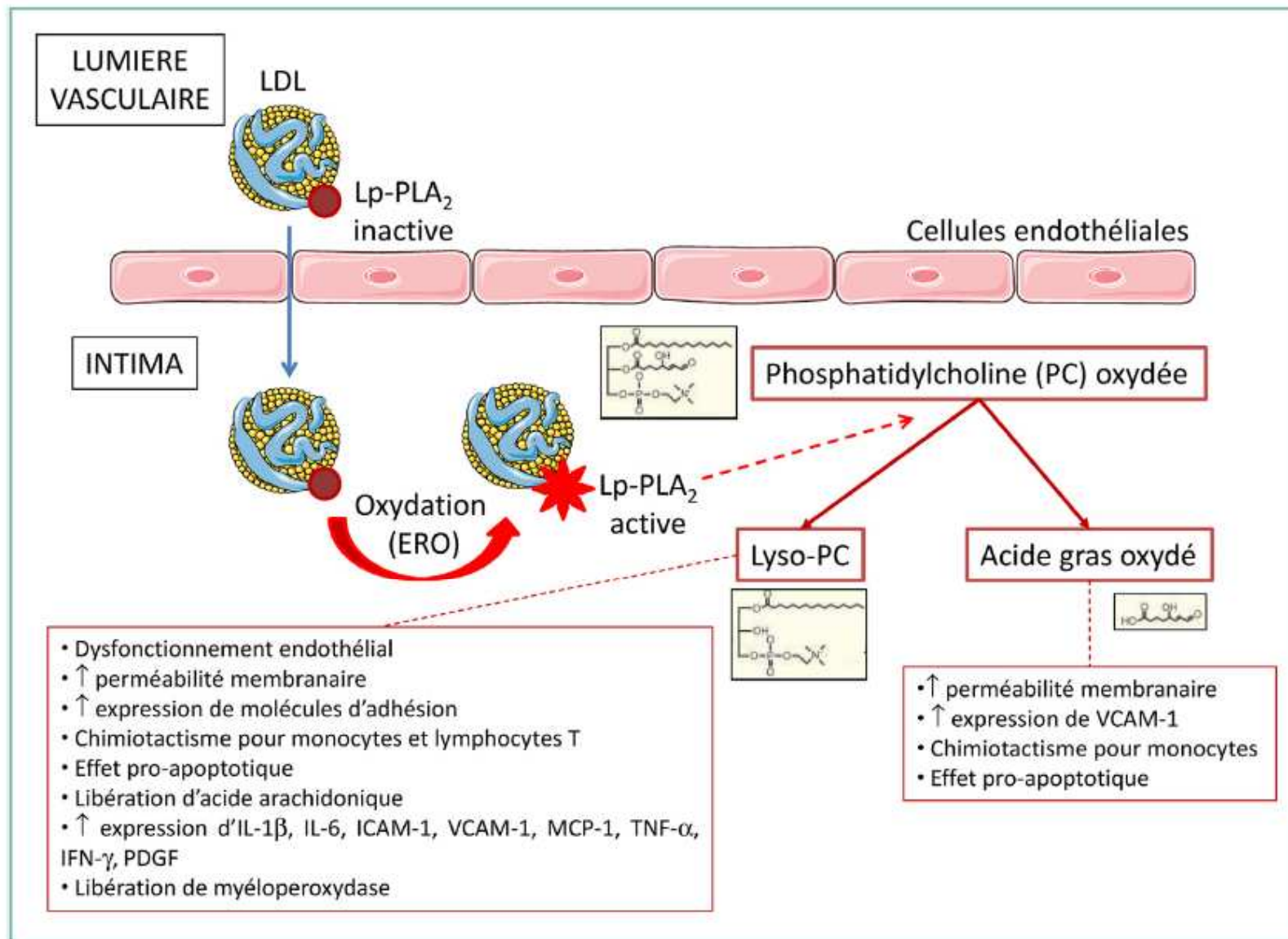


MÉCANISME D'ACTION DE LA Lp-PLA₂

- La Lp-PLA₂ hydrolyse les phospholipides oxydés des LDL

Tselepis et Chapman. *Atheroscler Suppl.*
2002; 3: 57-68

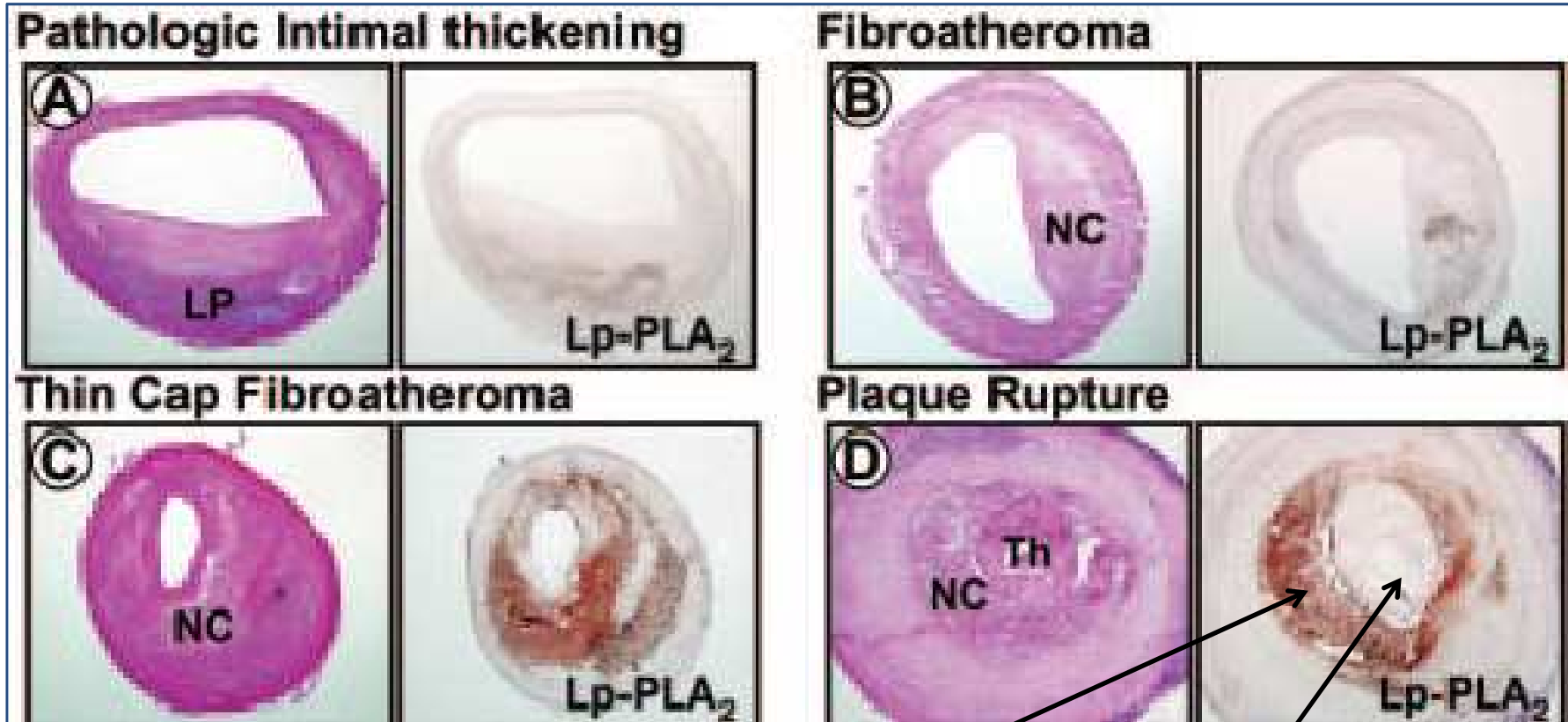




Activation de la Lp-PLA₂ et conséquences pro-athérogènes de la libération d'acides gras oxydés et de lysophosphatidylcholines

(Bonfont-Rousselot. *Ann. Pharm. Fr.* 2016;74:190-197)

Lp-PLA₂ ET VULNÉRABILITÉ DE LA PLAQUE

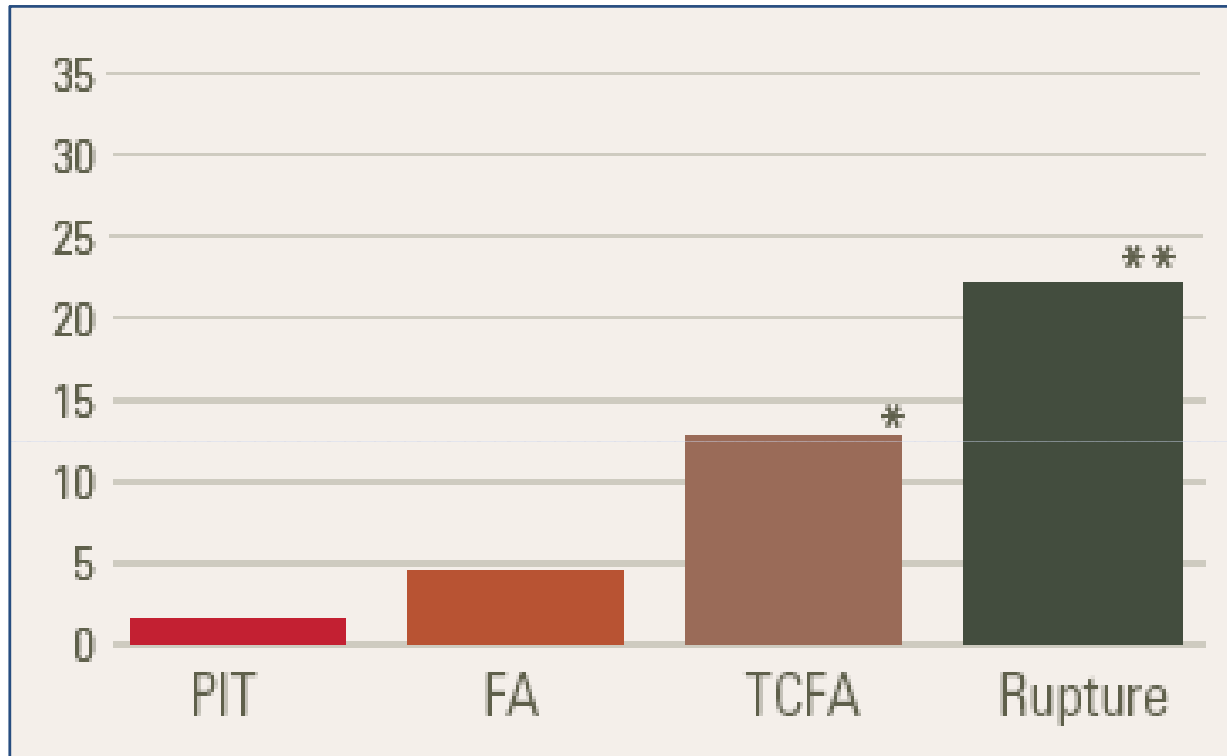


Core nécrotique lipidique

Thrombus

- Augmentation de l'expression de la Lp-PLA₂ avec l'évolution de la plaque

% Lp-PLA₂
dans la plaque



PIT = Epaissement pathologique de l'intima

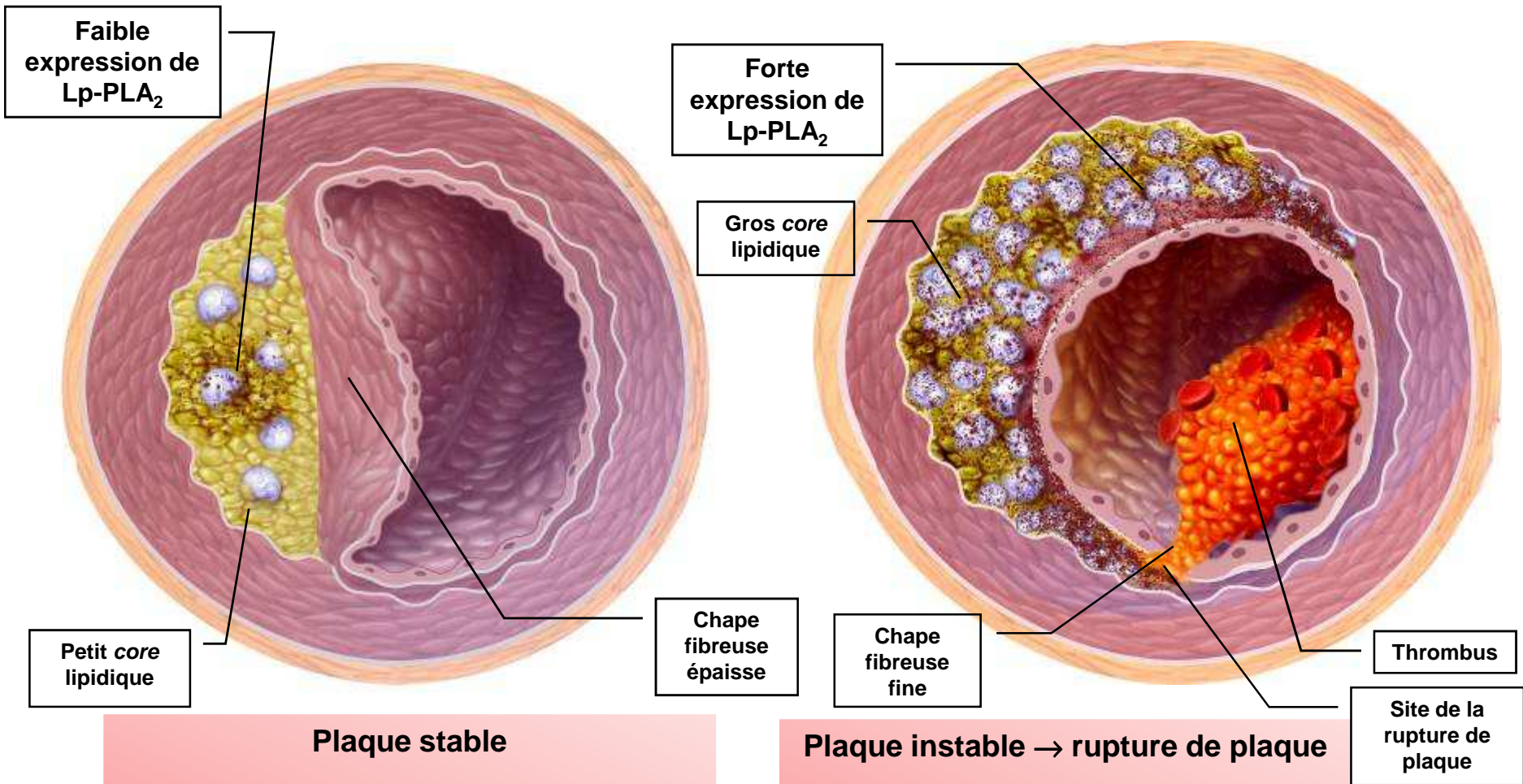
FA = Athérome fibreux

TCFA = Athérome fibreux à chape mince

* P < 0.05 vs. FA ou PIT

** P < 0.05 vs. TCFA, FA et PIT

• Lp-PLA₂ corrélée à l'instabilité de la plaque



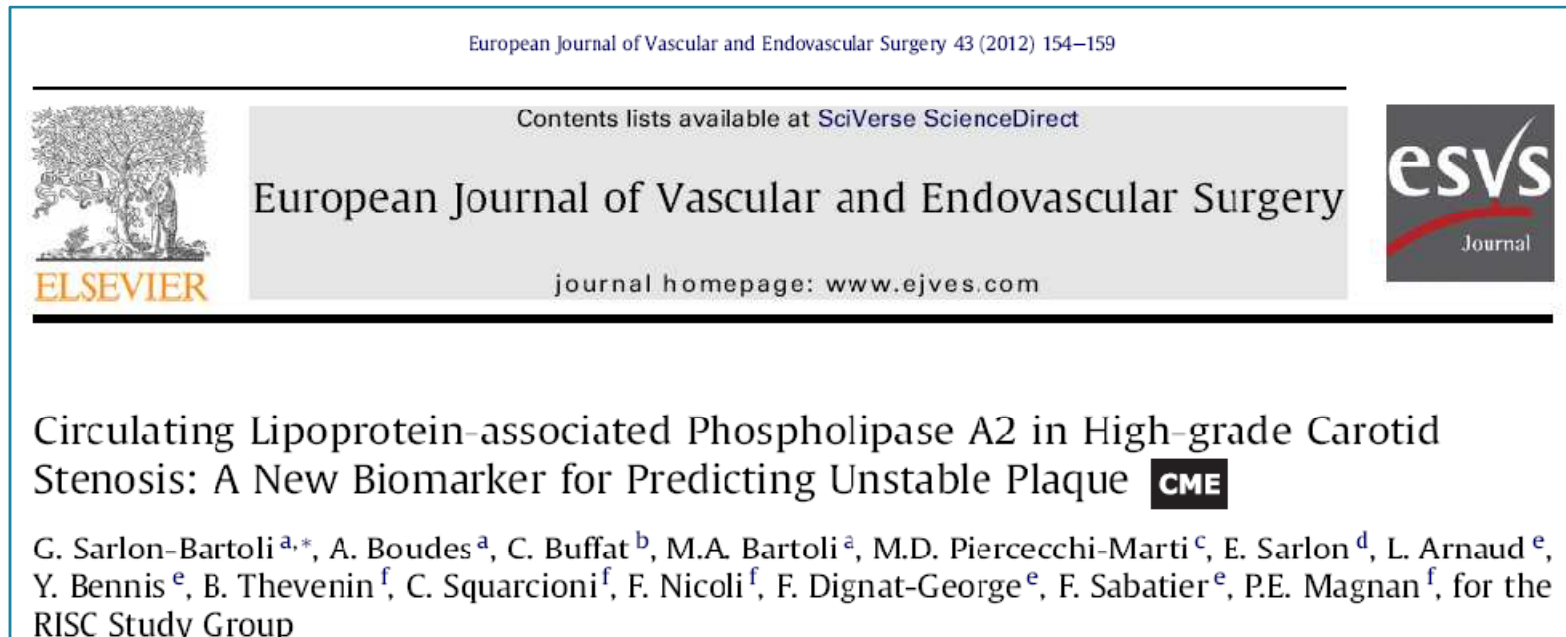
Plaque stable

- Peu de Lp-PLA₂
- Peut présenter une sténose significative
- Chape fibreuse épaisse
- Beaucoup de collagène
- Quelques cellules inflammatoires

Plaque instable → rupture de plaque

- Beaucoup de Lp-PLA₂
- Peut présenter une sténose peu importante
- Chape fibreuse fine
- Peu de collagène
- Beaucoup de cellules inflammatoires

- **Lp-PLA₂ circulante chez des patients avec sténose carotidienne de haut grade: ↑ avec l'instabilité de la plaque**



- Étude par rapport à l'histologie des plaques ⇒ **Lp-PLA₂ ↑ chez patients avec plaques instables**
- **Lp-PLA₂: marqueur pertinent pour évaluer la vulnérabilité d'une plaque et pour prédire le risque neurologique chez des sujets asymptomatiques avec sténose carotidienne ⇒ mieux cibler les patients devant bénéficier d'une chirurgie carotidienne.**

INTÉRÊT EN PATHOLOGIE CARDIOVASCULAIRE

- La Lp-PLA₂, paramètre d'évaluation du risque cardiovasculaire?

Consensus Panel Recommendation for Incorporating Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Testing into Cardiovascular Disease Risk Assessment Guidelines

Michael H. Davidson, MD,^{a,b,*} Marshall A. Corson, MD,^c Mark J. Alberts, MD,^d
Jeffrey L. Anderson, MD,^e Philip B. Gorelick, MD,^f Peter H. Jones, MD,^g
Amir Lerman, MD,^h Joseph P. McConnell, PhD,ⁱ and Howard S. Weintraub, MD^j

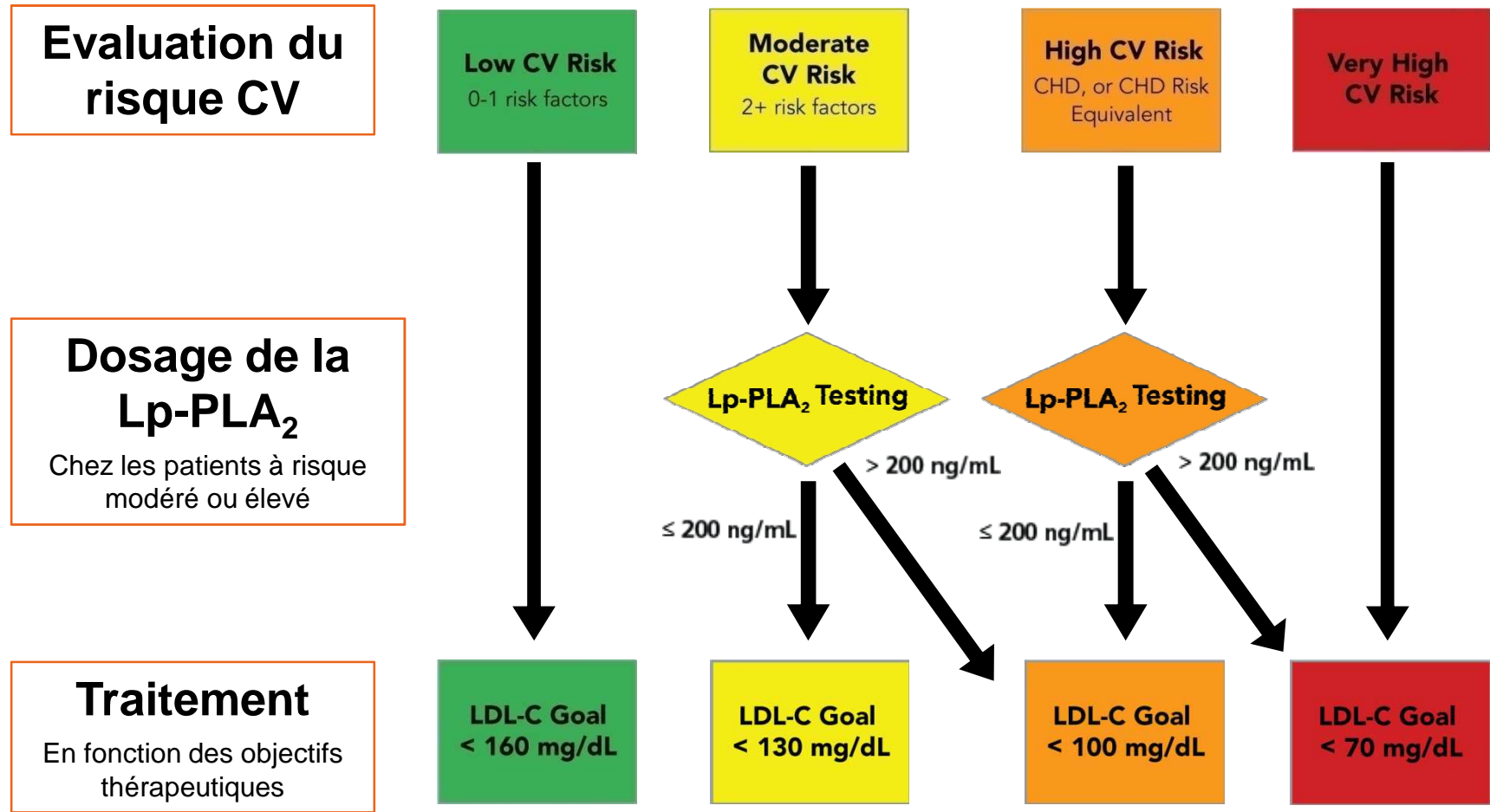
Am J Cardiol 2008; 101 (12A): 51F-57F

Consensus Panel Recommendation for Incorporating Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Testing into Cardiovascular Disease Risk Assessment Guidelines

Michael H. Davidson, MD,^{a,b,*} Marshall A. Corson, MD,^c Mark J. Alberts, MD,^d
 Jeffrey L. Anderson, MD,^e Philip B. Gorelick, MD,^f Peter H. Jones, MD,^g
 Amir Lerman, MD,^h Joseph P. McConnell, PhD,ⁱ and Howard S. Weintraub, MD^j



Proposition d'inclure le dosage de la Lp-PLA₂ dans un bilan prédictif de risque CV



D'après Davidson *et al.* *Am J Card Suppl* 2008; 101; 52F-57F

Quelques grandes études évaluant la valeur pronostique de la Lp-PLA₂ en pathologie cardiovasculaire

(Ait-Oufella *et al. Med. Sci.* 2014; 30: 526-531, d'après Mallat *et al., Circulation* 2010; 122: 2083-2200)

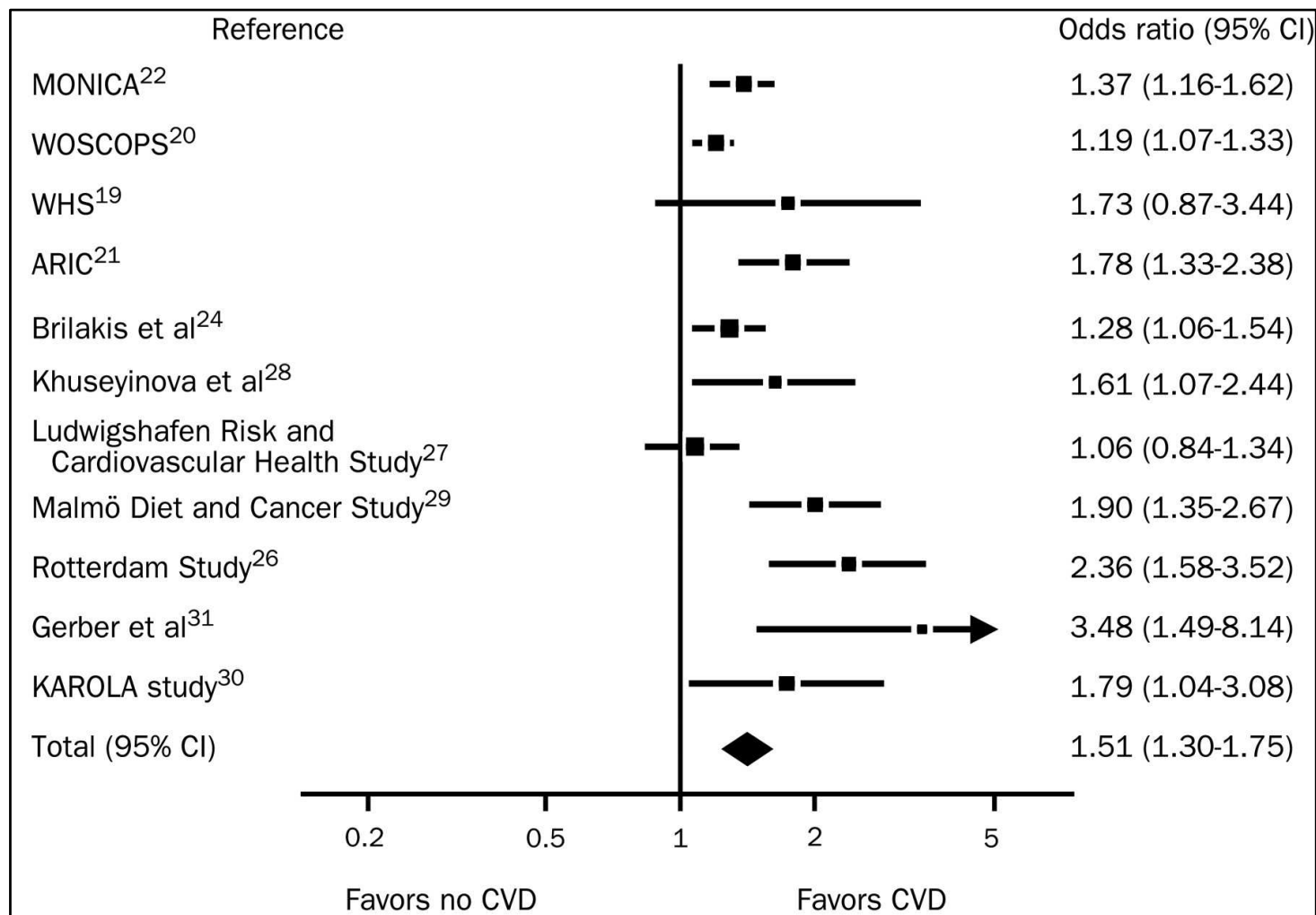
Marqueurs	Études	Populations	Critères d'évaluation	Risques (IC 95 %)	
	Méta-analyse de 32 études, 79 000 sujets	Indemnes de maladies cardiovasculaires	Maladie coronaire	Activité RR 1,17 (1,09-1,27)	Thomson <i>et al.</i> , (<i>Lancet</i> 2010)
Lp-PLA ₂	PEACE 3 766 patients	Coronariens stables	Critère composite (mortalité CV, SCA, AVC, revascularisation)	Masse HR 1,41 (1,17-1,70) 4 ^e quartile vs 1 ^e quartile	Sabatine <i>et al.</i> , (<i>ATVB</i> 2007)
	FRISCII 1362 patients GUSTO IV 904 patients	Syndrome coronarien aigu	Mortalité	Masse HR 1,4 (0,77-2,50) 3 ^e tertile vs 1 ^{er} tertile	Oldgren <i>et al.</i> , (<i>Eur Heart J</i> 2007)
	NOMAS 467 patients	1 ^{er} épisode d'AVC	Critère composite (mortalité CV, SCA, récurrence d'AVC)	Masse HR 1,86 (1,01-3,42) Activité 1,69 (0,76-3,76)	Elkind <i>et al.</i> , (<i>Arch Intern Med</i> 2006, <i>Cerebrovasc Dis</i> 2009)

⇒ Lp-PLA₂ utile essentiellement chez patients coronariens stables, ce n'est pas un marqueur de la phase aiguë

Lp-PLA₂ et événements cardiovasculaires

Méta-analyse chez des patients avec maladie coronaire stable

(Garza et al. *Mayo Clin. Proc.* 2007; 82: 159-165)

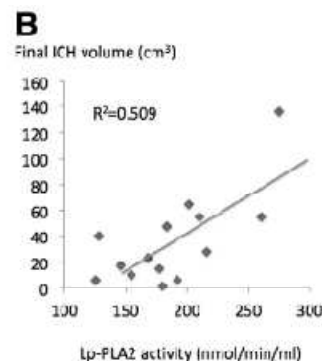
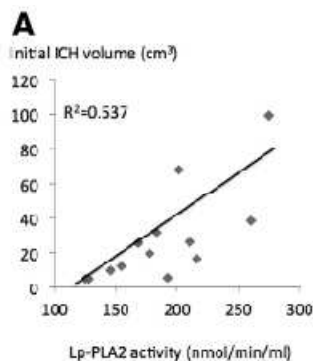
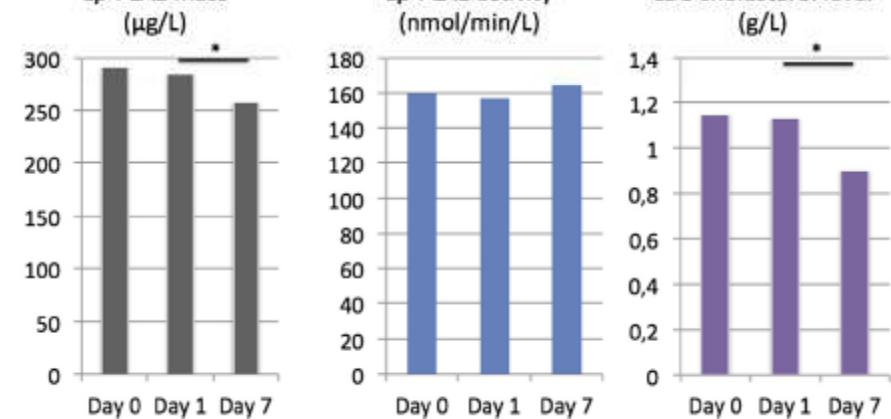
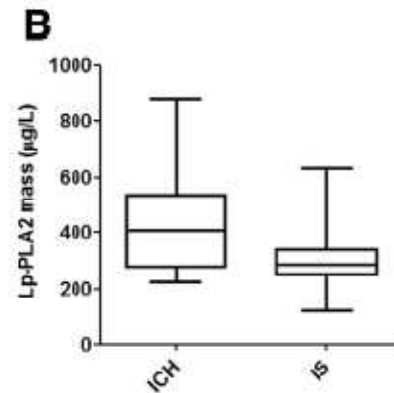
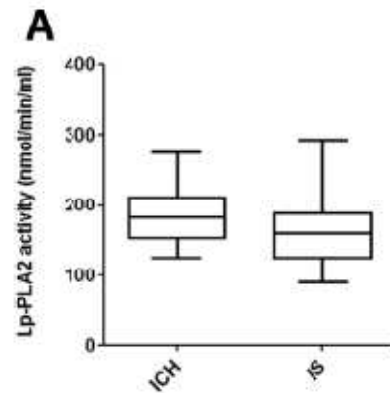


Lipoprotein-associated Phospholipase A2 during the Hyperacute Stage of Ischemic and Hemorrhagic Strokes

Charlotte Rosso, MD, PhD,^{*†‡} David Rosenbaum, MD,^{§||} Christine Pires, MSc,[‡]
 Corinne Cherfils, PharmD,[¶] Nabil Koujah, PharmD,[¶] Fouzi Mestari, PharmD,[¶]
 Emeline Gillet, MD,[¶] Sophie Crozier, MD,[‡] Mélika Sahli-Amor, MD,[#]
 Yves Samson, MD,^{*†‡} Dominique Bonnefont-Rousselot, PharmD,^{¶**1}
 and Randa Khani-Bittar, PharmD^{¶††1}

Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, Vol. 23, No. 4 (April), 2014: pp e277-e282

68 patients, prélevés dans les six 1^{ères} heures après AVC
 (79% ischémiques (IS), 21% hémorragie cérébrale (ICH))
 ⇒ **phase aiguë**



Evolution sous statine

- Lp-PLA₂ (masse) > dans ICH que dans IS
- Association de la Lp-PLA₂ (activité) avec le volume dans les ICH ⇒ intérêt pronostique

Prédiction du risque d'événements cardiovasculaires par l'activité Lp-PLA₂ dans l'étude JUPITER

(Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin)

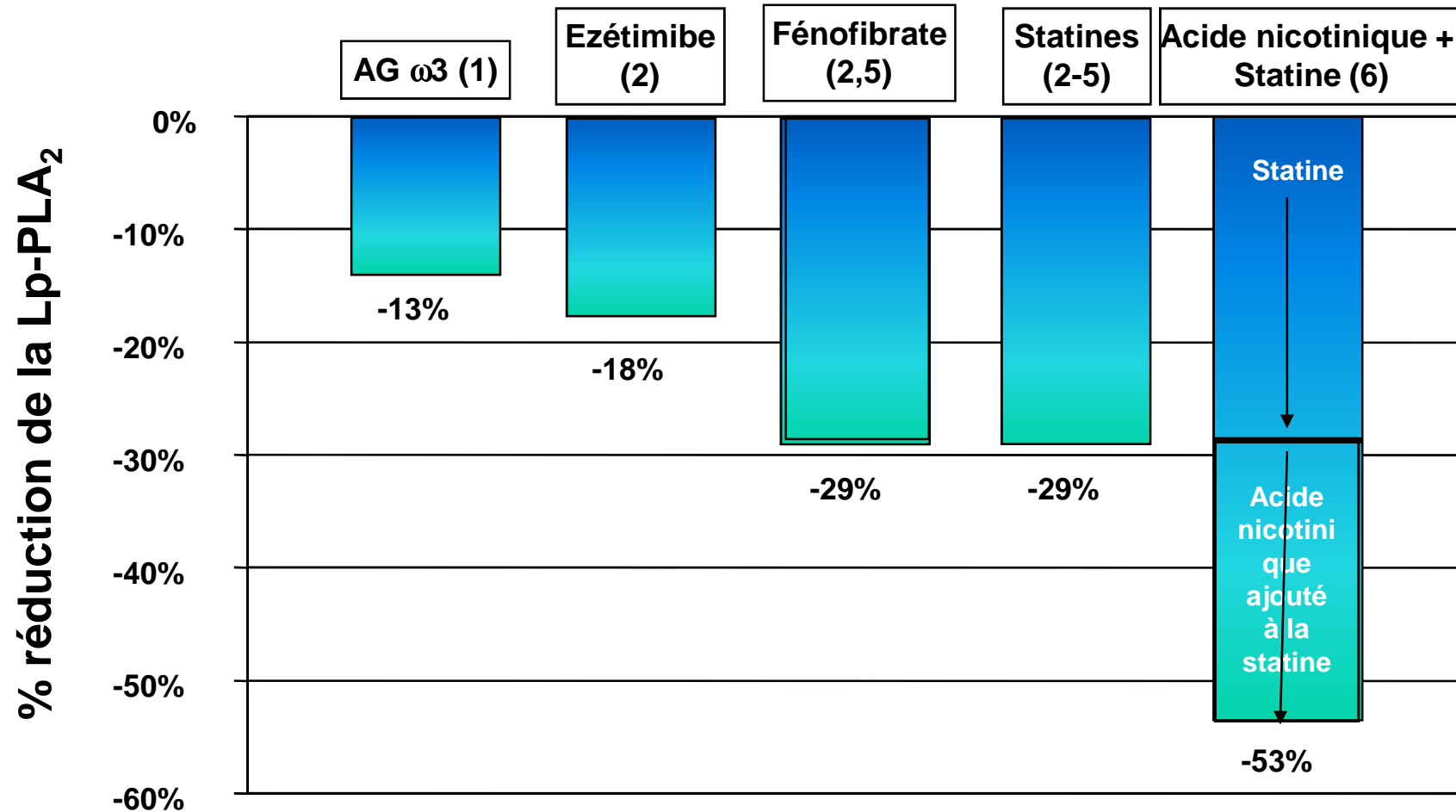
(Ridker et al. Clin. Chem. 2012; 58: 877-886)

Relation activité Lp-PLA₂ et événements CV chez des hommes et femmes sans ATCD CV et avec cholestérol-LDL < 1,3 g/L (3,4 mmol/L) et hs-CRP >2 mg/L, uniquement dans le groupe placebo

	1	2	3	4	
N	1365	1360	1363	1358	
Mean Lp-PLA2 Activity nmol/min/mL	<143.3	177.7	206.2	246	
Ranges	143.3-162.8	162.9-191.8	191.9-222.8	>222.9	
Primary events					
N of events	17	33	43	56	
Hazard Ratio	1	1.74	1.91	2.15	P=0.04
95% CI		0.95-3.19	1.03-3.52	1.13-4.08	

Ajustement pour âge, sexe, tabagisme, ATCD familiaux CV précoces, IMC, PA systolique, et niveaux de base de cholestérol-LDL, cholestérol-HDL et hs-CRP

Lp-PLA₂ et traitements



1. Schalwitz *et al.* ATVB Annual Mtg 2007

2. Saougos *et al.* ATVB 2007

3. Albert *et al.* *Atherosclerosis* 2005

4. Schaefer *et al.* *Am J Cardiol* 2005

5. Muhlestein *et al.* *JACC* 2006

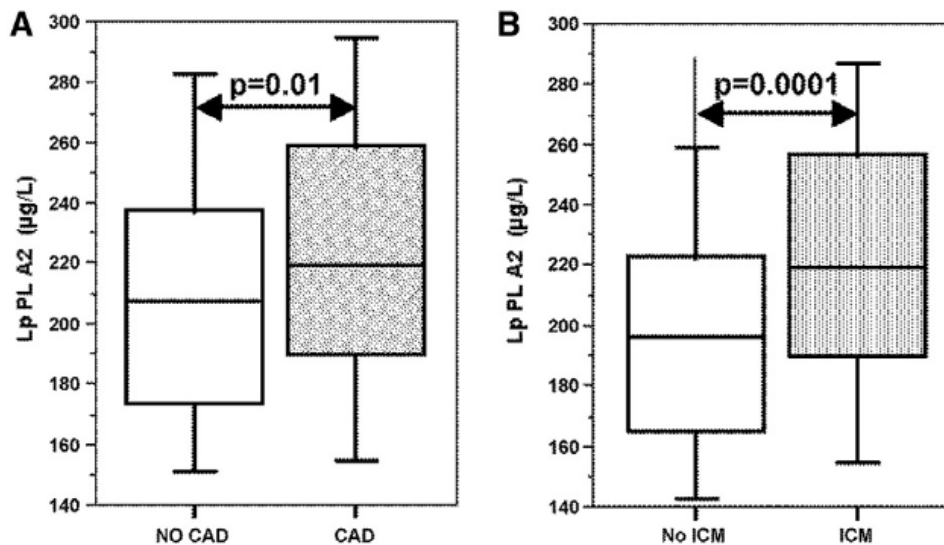
6. Kuvin *et al.* *Am J Cardiol* 2006

Interpretation of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels is influenced by cardiac disease, comorbidities, extension of atherosclerosis and treatments

J.C. Charniot ^{a,b,*}, R. Khani-Bittar ^{b,c}, J.P. Albertini ^d, P. Giral ^{c,e}, C. Cherfils ^b, C. Cosson ^{f,g}, E. Guillerme ^b, P. Leprince ^h, I. Gandjbakhch ^h, D. Bonnefont-Rousselot ^{b,g}

International Journal of Cardiology 168 (2013) 132–138

494 patients (69,8% hommes) âgés de 64,2±16,7 ans, avec angiographie coronaire



Lp-PLA₂ (masse) chez les patients avec ou sans maladie coronarienne (A) et avec ou sans cardiopathie ischémique (B)

- Lp-PLA₂ associée à la pathologie coronarienne mais également à l'athérosclérose extra-coronaire.
- Lp-PLA₂ augmentée dans sepsis, anévrisme de l'aorte, insuffisance cardiaque
- **Concentration de Lp-PLA₂ significativement associée avec statines, IEC, ARA2, mais pas avec β-bloquants, diurétiques ou anti-agrégants**

Étude LIPID

White *et al.*
J Am Heart Assoc.
 2013; 2: e000360

Changes in Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity Predict Coronary Events and Partly Account for the Treatment Effect of Pravastatin: Results From the Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease Study

Essai randomisé en double aveugle pravastatine 40 mg/j vs. placebo, 9014 patients en prévention secondaire, suivis pendant 6 ans

Endpoint	Change in Lp-PLA ₂ activity (nmol/min/mL)	Events	4 year rate (%)	Adjusted for all factors and baseline Lp-PLA ₂ activity		P-value
				Hazard Ratio (95% CI)	Hazard Ratio (95% CI)	
Major CHD event	> +2.8	216	10.4		1	0.002
	-19.8 to +2.8	178	8.7		0.80 (0.65, 0.98)	
	-46.6 to -19.8	166	8.2		0.77 (0.61, 0.97)	
	≤ -46.6	150	7.3		0.65 (0.50, 0.86)	
Major CVD event (CVD death, nonfatal MI or stroke)	> +2.8	274	13.1		1	0.003
	-19.8 to +2.8	239	12		0.85 (0.71, 1.01)	
	-46.6 to -19.8	214	10.6		0.79 (0.64, 0.97)	
	≤ -46.6	198	9.6		0.70 (0.55, 0.89)	
Total CVD event (Major CVD, unstable angina, revascularization)	> +2.8	515	27.4		1	<.001
	-19.8 to +2.8	506	28.2		0.96 (0.84, 1.08)	
	-46.6 to -19.8	451	25.1		0.85 (0.74, 0.99)	
	≤ -46.6	406	22.4		0.70 (0.59, 0.83)	



Plus la diminution de Lp-PLA₂ est importante pendant la 1^{ère} année, plus il y a diminution des événements CV

Cette diminution de Lp-PLA₂ prédit très significativement les événements CV, indépendamment de la diminution de cholestérol-LDL, et pourrait compter pour plus de la moitié des bénéfices de la pravastatine.



Lipoprotein-associated phospholipase A₂ activity is increased in patients with definite familial hypercholesterolemia compared with other forms of hypercholesterolemia

A. Mattina^{a,b,e,*}, D. Rosenbaum^{a,b,f}, R. Bittar^d, D. Bonnefont-Rousselot^{d,g,h}, D. Noto^e, M. Averna^e, E. Bruckert^{a,c}, P. Giral^{a,c}

Objectif: évaluer les différences d'activité Lp-PLA₂ chez des patients hypercholestérolémiques avec ou sans hypercholestérolémie familiale (FH) définie

Population: 469 patients en HDJ de Prévention CV à la Pitié-Salpêtrière.
C-LDL > 4,14 mmol/L et/ou traitement par statine
Score Dutch (ATCD familiaux, ATCD personnels, signes cliniques, analyse moléculaire) (Marks D et al. Atherosclerosis 2003;168:1) → 2 groupes:
- score ≥ 8: FH définie (**groupe DFH**)
- score < 8: FH non définie (**groupe NDFH**)

Résultats: Activité Lp-PLA₂ (nmol/mL/min) plus élevée chez les DFH que chez les NDFH, indépendamment du cholestérol-LDL



Lp-PLA₂: Lipoprotein-associated phospholipase A₂;
 DFH: definite familial hypercholesterolemia;
 NDFH: non-definite familial hypercholesterolemia.

	Lp-PLA ₂		
	R ²	β	p
Overall Model	0.55		<0.0001
Age, years		-0.33 ± 0.15	0.0240
Sex (men = 1)		19.44 ± 3.91	< 0.0001
Definite FH diagnosis (yes = 1)		9.36 ± 4.48	0.0373
LDL-Cholesterol, mmol/L		17.93 ± 1.43	< 0.0001
HDL-Cholesterol, mmol/L		-29.48 ± 4.34	< 0.0001
Statins (yes = 1)		-9.30 ± 4.50	0.0394
Systolic BP, mmHg		-0.21 ± 0.14	0.1406

FH: Familial Hypercholesterolemia; LDL: low density lipoprotein;
 HDL: high density lipoprotein; BP: blood pressure.



Implication possible de l'inflammation artérielle dans la survenue des accidents CV prématurés chez les patients FH → nécessité d'identifier ces patients (≈1/200 dans les pays occidentaux)

Variables indépendamment associées avec la Lp-LA₂

Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its relationship with markers of subclinical cardiovascular disease: A systematic review

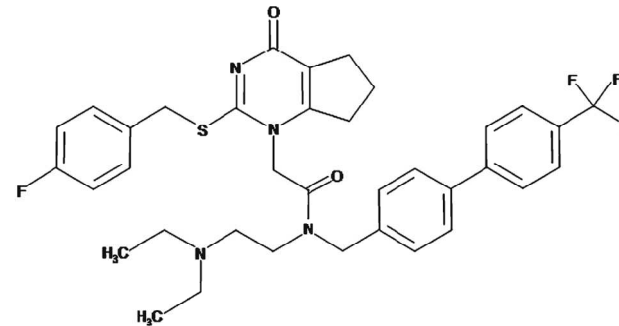
Younous *et al.*, *J Clin. Lipidol.* 2017; 11: 328-337

- **But: étudier la relation entre Lp-PLA₂ et maladie CV sub-clinique** (calcifications carotidiennes, épaisseur intima-media (EIM), dysfonction endothéliale) chez des sujets sans ATCD CV.
- Sur 144 articles, **13 études** retenues:
 - 3 sur 6 → association significative entre score calcique et Lp-PLA₂
 - 3 sur 5 → EIM plus élevée chez sujets à forte Lp-PLA₂
 - 1 sur 2 → relation avec dysfonction endothéliale
- ⇒ **Variabilité ++++**, en relation notamment avec:
 - Pas mesure des 3 éléments dans toutes les études
 - Lp-PLA₂ masse ou activité?
- **Pas de conclusion claire** sur l'utilité du dosage de Lp-PLA₂ dans le diagnostic et la prise en charge de la pathologie CV sub-clinique

Essais thérapeutiques: inhibiteurs de Lp-PLA₂ (1/2)

- **Hypothèse:** Lp-PLA₂ libère des substances pro-inflammatoires ⇒ inhiber son activité peut avoir une action de protection vasculaire, en association aux hypolipémifiants
- ✓ Étude à grande échelle: porteurs de l'allèle nul V279F sont protégés des maladies CV (Jang *et al. PloS One* 2011; 6: e18208)

- **Darapladib:** inhibiteur de Lp-PLA₂



- ✓ ↓ développement des lésions d'athérosclérose, leur contenu en macrophages, l'inflammation des plaques dans modèles expérimentaux (Rosenson et Stafforini, *J Lipid Res* 2012; 53: 1767-1782)

Essais thérapeutiques: inhibiteurs de Lp-PLA₂ (2/2)

• Essais cliniques avec Darapladib → résultats non probants:

- ✓ **Integrated Biomarker and Imaging Study 2** (Serruys et al. *Circulation* 2008; 118: 1172-1182): pas d'effet sur déformabilité, composition et taille des plaques d'athérome, CRP, et volume total d'athérome. Limitation de l'expansion du core nécrotique (imagerie).
- ✓ **STABILITY** (*STabilization of Atherosclerotic plaque By Initiation of darapLadib Therapy*) (White et al., *Am Heart J* 2010; 160: 655-661; *New Engl J Med* 2014; 370: 1702-1711): pas de modification de mortalité CV, IDM ou AVC chez des patients coronariens stables
- ✓ **SOLID-TIMI 52** (*The Stabilisation Of pLaques using Darapladib-Thrombolysis In Myocardial Infarction 52*) (<http://www.gsk.com/media/press-releases/2014>): pas de réduction des événements CV après SCA.

• Remarques:

- ✓ Dans STABILITY, la Lp-PLA₂ n'est pas un critère d'inclusion ou d'exclusion
- ✓ Absence de données sur Lp-PLA₂ dans STABILITY (Lp-PLA₂ basale, ou suivi)
- ✓ De fortes doses de statine réduisent la Lp-PLA₂ jusqu'à -35%
- ✓ Dans STABILITY, le Darapladib dans cette population (valeurs basses de cholestérol-LDL (78,0 mg/dL, soit 2,02 mmol/L) et PA 132/77 mm Hg) ne diminue pas le risque de mort par accidents CV.



Available online at www.jbr-pub.org

Open Access at PubMed Central

JBR

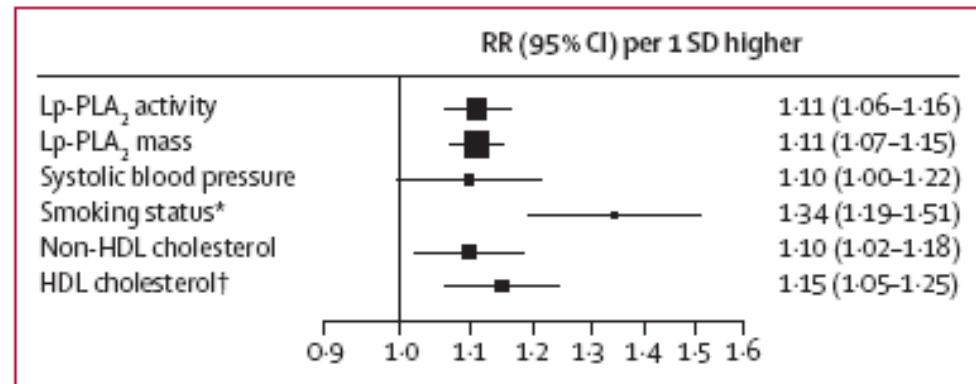
The Journal of Biomedical Research, 2017, 31(00):1-9

Oxidized phospholipids and lipoprotein-associated phospholipase A₂ as important determinants of Lp(a) functionality and pathophysiological role

Alexandros D. Tselepis[✉]

- **Liaison** de Lp-PLA₂ à la Lp(a): **par apoB-100** (pas par apo(a))
- Enrichissement > **aux LDL** en Lp-PLA₂
- Activité catalytique différente selon les isoformes de Lp(a): **activité basse associée aux petites isoformes** ⇒ séquestration des PL oxydés sur ces isoformes ⇒ corrélation forte entre petites isoformes et [PL oxydés/apoB] dans le plasma
 - **rôle important dans la fonctionnalité de la Lp(a) qui se lie à des PL oxydés**
- **Inhibition de la Lp-PLA₂ par Darapladib** uniquement testée sur plasma total et sur LDL,
 - quid sur Lp(a) et sur HDL?
 - pourrait expliquer les résultats décevants des essais de phase 3?

DISCUSSION/ CONCLUSIONS (1/3)



- Niveaux élevés de Lp-PLA₂ , ou variation de Lp-PLA₂ sous traitement, prédictifs d'événements CV

- ✓ Facteur de risque indépendant: sous-étude de LIPID sur 6500 patients ⇒ la réduction de Lp-PLA₂ prédit très significativement la réduction des événements CV ultérieurs (*White et al. J Am Heart Assoc* 2013; 2: e000360)

- ✓ Méta-analyse sur près de 80000 patients (32 études prospectives): Lp-PLA₂ est un biomarqueur prédictif d'événements CV (*Thomson et al., Lancet* 2010; 375: 1536-1544)

DISCUSSION/CONCLUSIONS

(2/3)

- Mesure de Lp-PLA₂ réservée à des **patients à risque CV modéré ou élevé**, plutôt qu'à une population saine ou à faible risque CV (Cai *et al. Dis. Markers* 2013; 34: 323-331)
 - ⇒ **valeur additionnelle aux facteurs de risque classiques** pour identifier patients à haut risque CV et intensifier les interventions
- Lp-PLA₂ : **rôle spécifique de site** dans l'inflammation de la plaque et son développement ? (Fenning *et al. J. Am. Heart Assoc.* 2015; 4(2). pii: e001477)
- Activité Lp-PLA₂ élevée: reflèterait une **réponse au stress pro-inflammatoire?** (Marathe *et al. J. Lipid Res.* 2014; 55. 1847-1854)

DISCUSSION/CONCLUSIONS

(3/3)

Controverses

- Lp-PLA₂ liée aux HDL aurait une fonction anti-oxydante → rôle anti-inflammatoire

≠ Lp-PLA₂ liée aux LDL → fonction pro-inflammatoire (Rallidis *et al.* JACC 2012; 60: 2053-2060)

- **Études génétiques:** mutation (V279) sur *PLA2G7* (surtout Japon) → perte partielle ou complète de l'activité Lp-PLA₂ avec études montrant un **effet pro-inflammatoire de Lp-PLA₂** (Jang *et al. Plos One.* 2011; 6: e18208)