

EAS CONSENSUS STATEMENT

LE LIPOPROTEINE A BASSA DENSITÀ CAUSANO MALATTIA CARDIOVASCOLARE ATEROSCLEROTICA - EVIDENZE DALLA GENETICA, DALL'EPIDEMIOLOGIA E DAGLI STUDI CLINICI

**European Atherosclerosis Society Consensus
Panel Consensus Statement**

**Low-density lipoproteins cause
atherosclerotic cardiovascular disease.
I. Evidence from genetic, epidemiologic,
and clinical studies**

**A consensus statement from the European
Atherosclerosis Society Consensus Panel**

**B.A. FERENCÉ¹, H.N. GINSBERG², I. GRAHAM³, K.K. RAY⁴, C.J. PACKARD⁵,
E. BRUCKERT⁶, R.A. HEGELE⁷, R.M. KRAUSS⁸, F.J. RAAL⁹, H. SCHUNKERT^{10,11},
G.F. WATTS¹², J. BORÉN¹³, S. FAZIO¹⁴, J.D. HORTON^{15,16}, L. MASANA¹⁷,
S.J. NICHOLLS¹⁸, B.G. NORDESTGAARD^{19,20,21}, B. VAN DE SLUIS²²,
M.R. TASKINEN²³, L. TOKGÖZOĞLU²⁴, U. LANDMESSER^{2,6,25}, U. LAUFS²⁶,
O. WIKLUND^{27,28}, J.K. STOCK²⁹, M.J. CHAPMAN³⁰, A.L. CATAPANO³¹**

Indirizzo per la corrispondenza

Manuela Casula

Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP),
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano
E-mail: manuela.casula@unimi.it

- ¹Division of Translational Research and Clinical Epidemiology, Division of Cardiovascular Medicine, Wayne State University School of Medicine, Detroit, MI 48202, USA;
- ²Irving Institute for Clinical and Translational Research, Columbia University, New York, NY, USA;
- ³Trinity College Dublin, Ireland;
- ⁴Department of Primary Care and Public Health, Imperial Centre for Cardiovascular Disease Prevention, Imperial College, London, UK;
- ⁵College of Medical, Veterinary, and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK;
- ⁶INSERM UMRS1166, Department of Endocrinology-Metabolism, ICAN - Institute of Cardio Metabolism and Nutrition, AP-HP, Hôpital de la Pitié, Paris, France;
- ⁷Department of Medicine, Robarts Research Institute, Schulich School of Medicine and Dentistry, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada;
- ⁸Department of Atherosclerosis Research, Children's Hospital Oakland Research Institute, Oakland, CA 94609, USA;
- ⁹Faculty of Health Sciences, University of Witwatersrand, Johannesburg, South Africa;
- ¹⁰Deutsches Herzzentrum München, Technische Universität München, Munich 80636, Germany;
- ¹¹Deutsches Zentrum für Herz und Kreislauferkrankungen (DZHK), Partner Site Munich Heart Alliance, Munich 81377, Germany;
- ¹²Lipid Disorders Clinic, Centre for Cardiovascular Medicine, Royal Perth Hospital, School of Medicine and Pharmacology, University of Western Australia, Perth, Western Australia, Australia;
- ¹³Department of Molecular and Clinical Medicine, Wallenberg Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden;
- ¹⁴Department of Medicine, Center for Preventive Cardiology of the Knight Cardiovascular Institute, Oregon Health and Science University, Portland, OR, USA;
- ¹⁵Department of Molecular Genetics, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA;
- ¹⁶Department of Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA;
- ¹⁷Research Unit of Lipids and Atherosclerosis, University Rovira i Virgili, C. Sant Llorenç 21, Reus 43201, Spain;
- ¹⁸South Australian Health and Medical Research Institute, University of Adelaide, Adelaide, Australia;
- ¹⁹Department of Clinical Biochemistry and The Copenhagen General Population Study, Herlev and Gentofte Hospital, Copenhagen University Hospital, Denmark;
- ²⁰Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Denmark;
- ²¹The Copenhagen City Heart Study, Frederiksberg Hospital, Copenhagen University Hospital, Denmark;
- ²²Department of Pediatrics, Molecular Genetics Section, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Antonius Deusinglaan 1, Groningen AV 9713, The Netherlands;
- ²³Helsinki University Central Hospital and Research Programs' Unit, Diabetes and Obesity, Heart and Lung Centre, University of Helsinki, Helsinki, Finland;
- ²⁴Hacettepe University, Ankara, Turkey;
- ²⁵Department of Cardiology, Charité-Universitätsmedizin Berlin (CBF), Hindenburgdamm 30, Berlin 12203, Germany;
- ²⁶Klinik für Innere Medizin III, Kardiologie, Angiologie und Internistische Intensivmedizin, Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Saar, Germany;
- ²⁷Department of Molecular and Clinical Medicine, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden;
- ²⁸Department of Cardiology, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden;
- ²⁹European Atherosclerosis Society, Gothenburg, Sweden;
- ³⁰INSERM, Dyslipidemia and Atherosclerosis Research, and University of Pierre and Marie Curie, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France;
- ³¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan and IRCCS Multimedica, Milan, Italy

SUMMARY

Aims. To appraise the clinical and genetic evidence that low-density lipoproteins (LDLs) cause atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD).

Methods and results. We assessed whether the association between LDL and ASCVD fulfils the criteria for causality by evaluating the totality of evidence from genetic studies, prospective epidemiologic cohort studies, Mendelian randomization studies, and randomized trials of LDL-lowering therapies. In clinical studies, plasma LDL burden is usually estimated by determination of plasma LDL cholesterol level (LDL-C). Rare genetic mutations that cause reduced LDL receptor function lead to markedly higher LDL-C and a dose-dependent increase in the risk of ASCVD, whereas rare variants leading to lower LDL-C are associated with a correspondingly lower risk of ASCVD. Separate meta-analyses of over 200 prospective cohort studies, Mendelian randomization studies, and randomized trials including more than 2 million participants with over 20 million person-years of follow-up and over 150,000 cardiovascular events demonstrate a remarkably consistent dose-dependent log-linear association between the absolute magnitude of exposure of the vasculature to LDL-C and the risk of ASCVD; and this effect appears to increase with increasing duration of exposure to LDL-C. Both the naturally randomized genetic studies and the randomized intervention trials consistently demonstrate that any mechanism of lowering plasma LDL particle concentration should reduce the risk of ASCVD events proportional to the absolute reduction in LDL-C and the cumulative duration of exposure to lower LDL-C, provided that the achieved reduction in LDL-C is concordant with the reduction in LDL particle number and that there are no competing deleterious off-target effects.

Conclusion. Consistent evidence from numerous and multiple different types of clinical and genetic studies unequivocally establishes that LDL causes ASCVD.

Key words: *Atherosclerosis, Cardiovascular disease, Causality, Clinical trials, Ezetimibe, Low-density lipoprotein, Mendelian randomization, PCSK9, Recommendations, Statin.*

Introduzione

La malattia cardiovascolare aterosclerotica (ASCVD) e le sue manifestazioni cliniche, come l'infarto miocardico (MI) e l'ictus ischemico, sono la causa principale di morbilità e mortalità in tutto il mondo. L'esposizione a molteplici fattori di rischio è stata associata ad un aumento dell'incidenza di eventi cardiovascolari (1). Tra queste, la più ampiamente studiata è sicuramente l'esposizione a lipoproteine a bassa densità (LDL). Diverse evidenze hanno dimostrato che le LDL ricche in colesterolo e altre lipoproteine contenenti apolipoproteina B (apoB), comprese le lipoproteine a bassa densità (VLDL) e i loro remnant, lipoproteine a densità intermedia (IDL) e lipoproteina(a) [Lp(a)], sono direttamente implicate nello sviluppo di ASCVD (2).

Nonostante un ampio corpo di evidenze a sostegno, alcuni autori esprimono ancora scetticismo sulla natura causale del rapporto tra LDL e sviluppo di ASCVD (3). Con la disponibilità di nuovi agenti altamente efficaci sulla riduzione delle LDL e lo sviluppo di ulteriori prodotti ipolipemizzanti a prolungata durata d'azione, esiste la necessità di un consenso sul fatto che le LDL provochino ASCVD, al fine di fornire le basi per le Linee Guida del trattamento e supportare le agenzie regolatorie nell'approvazione di nuovi farmaci.

Questo Consensus Statement, il primo di due articoli relativi al ruolo causale delle LDL, valuta evidenze da studi genetici, epidemiologici e clinici. Il secondo documento tratterà i dati a supporto di tale causalità in base all'attuale comprensione della fisiopatologia della ASCVD. Anche se in questi documenti l'attenzione è fo-

calizzata sulle LDL, ciò non diminuisce l'importanza del ruolo di altre lipoproteine contenenti apoB sullo sviluppo di ASCVD, né esclude potenziali azioni aterogene dei singoli componenti lipidici e proteici delle LDL oltre a colesterolo e apoB.

La maggior parte delle pubblicazioni che indagano l'effetto causale delle LDL sullo sviluppo di ASCVD tendono a citare dati da singoli studi o da un piccolo gruppo di studi altamente selezionati, spesso senza una sintesi quantitativa delle prove

Tabella I - Criteri di causalità: lipoproteine a bassa densità (LDL) e malattia cardiovascolare aterosclerotica (ASCVD).

| Criterio Modificato da (5) | Livello delle evidenze | Riassunto delle evidenze |
|---|------------------------|---|
| 1. Plausibilità | 1 | Le LDL e altre lipoproteine contenenti apolipoproteina B (lipoproteine a densità molto bassa [VLDL], loro remnant, lipoproteine a densità intermedia e lipoproteina(a)) sono direttamente implicate nello sviluppo e nella progressione di ASCVD; innalzamenti sperimentalmente indotti dei livelli plasmatici di LDL e di altre lipoproteine contenenti apoB portano ad aterosclerosi in tutte le specie di mammiferi studiate (2, 5-12) |
| 2. Forza | 1 | Livelli aumentati delle LDL per tutta la durata della vita mediati da varianti monogeniche e poligeniche portano a un rischio significativamente più elevato (13-20, 27-31, 40, 43) |
| 3. Gradiente biologico | 1 | Disturbi lipidici monogenici, studi di coorte prospettici, studi di randomizzazione mendeliana e studi di intervento randomizzati dimostrano in modo uniforme un'associazione log-lineare dose-dipendente tra l'entità assoluta dell'esposizione alle LDL e il rischio di ASCVD (13-22, 27-36, 38-40, 42-47) |
| 4. Sequenza temporale | 1 | I disturbi lipidici monogenici e gli studi di randomizzazione mendeliana dimostrano che l'esposizione a LDL elevate precede l'insorgenza di ASCVD (13-20, 27-31, 40, 43) |
| 5. Specificità | 1 | Studi di randomizzazione mendeliana e studi di intervento randomizzati forniscono entrambi evidenze non affette da confondimento che le LDL sono associate a ASCVD indipendentemente da altri fattori di rischio (28, 31-33, 40, 43) |
| 6. Consistenza | 1 | Oltre 200 studi che hanno coinvolto più di 2 milioni di partecipanti con oltre 20 milioni di anni-persona di follow-up e più di 150.000 eventi cardiovascolari dimostrano costantemente una associazione log-lineare dose-dipendente tra l'entità assoluta dell'esposizione alle LDL e il rischio di ASCVD (13-22, 27-36, 38-40, 42-47) |
| 7. Coerenza | 1 | Disturbi lipidici monogenici, studi di coorte prospettici, studi di randomizzazione mendeliana e studi di intervento randomizzati mostrano una associazione log-lineare dose-dipendente tra l'entità assoluta dell'esposizione alle LDL e il rischio di ASCVD (15-18, 21, 22, 28, 30-32, 35, 36, 43, 44, 47) |
| 8. Riduzione del rischio con l'intervento | 1 | Più di 30 studi randomizzati che coinvolgono più di 200.000 partecipanti e 30.000 eventi da ASCVD e che hanno valutato terapie specificamente progettate per ridurre le LDL (tra cui statine, ezetimibe e inibitori di PCSK9) dimostrano costantemente che la riduzione del colesterolo LDL (c-LDL) riduce il rischio di eventi da ASCVD proporzionalmente alla riduzione assoluta di c-LDL (32-34, 38, 39, 42, 45-47) |

I criteri sono classificati in base a una versione modificata dei criteri di qualità adottati dall'European Society of Cardiology.

Vedi <http://www.escardio.org/Guidelines-&-Education/Clinical-Practice-Guidelines/Guidelinesdevelopment/Writing-ESC-Guidelines> (31 Gennaio 2017).

Sono definiti come segue

Classe 1: Evidenza e/o accordo generale che il criteri di casualità sia soddisfatto.

Classe 2: Evidenze contrastanti e/o opinioni divergenti circa il fatto che il criterio sia indicativo di causalità.

Classe 3: Evidenza e/o accordo generale che il criteri di casualità non sia soddisfatto.

presentate (4). Pertanto, per evitare questo tipo di bias di selezione, gli autori hanno basato le conclusioni sulla totalità delle evidenze provenienti da metanalisi separate di studi genetici, studi epidemiologici prospettici, studi di randomizzazione mendeliana e studi clinici randomizzati.

Questo comprende oltre 200 studi che hanno coinvolto più di 2 milioni di partecipanti con oltre 20 milioni di anni-persona di follow-up e più di 150.000 eventi cardiovascolari.

Insieme, questi studi forniscono evidenze estremamente coerenti e inequivocabili che le LDL causano ASCVD, come riassunto nella *tabella 1*.

Patofisiologia dell'aterosclerosi

Gli eventi chiave nello sviluppo di ASCVD sono la ritenzione e l'accumulo di lipoproteine contenenti apoB e ricche in colesterolo all'interno della tonaca intima della parete arteriosa nei siti di predilezione per la formazione di placca (5-9). In particolare, le LDL e altre lipoproteine contenenti apoB inferiori ai 70 nm di diametro (compresi VLDL, i loro remnant, IDL e Lp(a)) entrano ed escono facilmente dall'intima arteriosa (9, 10). A livelli di colesterolo LDL oggi considerati fisiologicamente rilevanti (circa 0,5-5,0 mmol/L o 20-40 mg/dL), tipici dei neonati (11) e di una vasta gamma di specie di mammiferi (12), la probabilità di ritenzione delle particelle LDL e il rischio di sviluppare l'aterosclerosi è bassa.

All'aumentare del c-LDL sopra questo livello, la probabilità di ritenzione nell'intima delle LDL, evento che porta alla formazione e allo sviluppo progressivo della placca aterosclerotica, aumenta in maniera dose-dipendente (2). Questo argomento sarà discusso in dettaglio in un prossimo articolo.

Colesterolo, LDL e c-LDL

I termini 'colesterolo', 'LDL' e 'colesterolo LDL (c-LDL)' sono spesso confusi o utilizzati in modo intercambiabile, generando potenziali incomprensioni. Il colesterolo è una componente essenziale delle membrane cellulari e un precursore di acidi biliari e ormoni steroidi. Da sottolineare, il colesterolo di origine esogena ed endogena viene trasportato in cellule periferiche per lo più ad opera delle lipoproteine contenenti apoB presenti nel plasma. Nella maggior parte delle persone, le particelle LDL costituiscono circa il 90% delle lipoproteine circolanti contenenti apoB in condizioni di digiuno (*Figura 1*). Tuttavia, nella pratica clinica, il livello plasmatico di LDL non viene generalmente misurato direttamente, ma viene stimato dalla concentrazione del c-LDL, una misura della quantità totale di colesterolo contenuto nelle particelle LDL. Di conseguenza, nel tempo, il livello plasmatico calcolato di c-

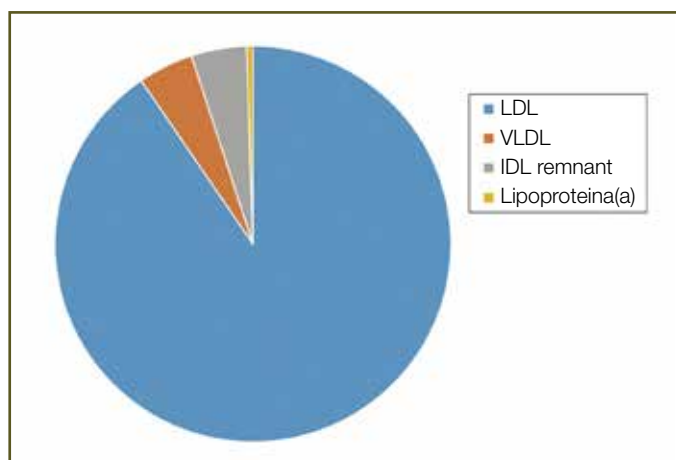


Figura 1 - Concentrazione relativa di apolipoproteina B (apoB) contenuta in lipoproteine circolanti in soggetti normolipidemici. Il contenuto di apoB è calcolato in nanomoli per litro, usando 500.000 come massa molecolare definita [cioè lipoproteine a bassa densità (LDL) 100 mg/dL o 2000 nmol/L, lipoproteine a bassissima densità (VLDL) 5 mg/dL o 100 nmol/L, remnant di lipoproteine a densità intermedia (IDL) 5 mg/dL o 100 nmol/L e lipoproteina (a) 10 nmol/l*]. *Basato sulla mediana della popolazione.

LDL è diventato centrale nella stima del rischio cardiovascolare e nella valutazione del beneficio terapeutico negli studi clinici randomizzati.

Nella maggior parte delle condizioni, la concentrazione di c-LDL e il numero di particelle LDL sono fortemente correlati, e quindi il c-LDL plasmatico è un buon surrogato per la concentrazione di particelle LDL. Tuttavia, in determinate condizioni (es. sindrome metabolica, diabete e ipertrigliceridemia), le concentrazioni plasmatiche di c-LDL e di LDL possono diventare discordanti a causa della predominanza di LDL piccole e dense, povere in colesterolo; in questi casi, il c-LDL plasmatico non riflette accuratamente la concentrazione di particelle LDL o il suo effetto sul rischio cardiovascolare. In queste condizioni, la misura diretta del numero di particelle LDL o della concentrazione di apoB (riconoscendo che ogni particella LDL contiene una singola molecola apoB) può riflettere più accuratamente l'effetto causale delle LDL sulla ASCVD. In questo Consensus Statement, si valutano le evidenze a sostegno del rapporto causale tra LDL e ASCVD, analizzando criticamente le prove cliniche anche alla luce del fatto che la maggioranza degli studi clinici ha utilizzato il c-LDL come stima della concentrazione di LDL.

Evidenze dai disturbi ereditari del metabolismo lipidico

L'ipercolesterolemia familiare (FH) è un disturbo autosomico co-dominante, che di solito deriva da una mutazione con perdita di funzione (LOF) nel gene del recettore LDL (LDLR) o, meno comunemente, da mutazioni LOF nel gene *APOB*, che riducono il legame di lipoproteine contenenti apoB al recettore LDL, o da una mutazione con guadagno di funzione (GOF)

nel gene *PCSK9*. Indipendentemente dal difetto genetico sottostante, la FH è caratterizzata da livelli elevati di c-LDL e da aterosclerosi precoce, in particolare malattia coronarica (13, 14).

Nella forma più comune di FH, una mutazione nel gene LDLR determina una diminuzione della funzione del recettore LDL che porta ad una concentrazione notevolmente aumentata delle particelle LDL circolanti e del colesterolo portato da quelle particelle (cioè c-LDL). La forma eterozigote (HeFH) colpisce tra 1: 200 e 1: 300 persone in tutto il mondo (15, 16) e, quando non trattata, è caratterizzata da livelli di c-LDL nell'intervallo 4,5-12 mmol/L e da un notevole aumento del rischio di ASCVD (13). La forma omozigote (HoFH) è una condizione molto più rara, con un fenotipo estremo caratterizzato, in assenza di trattamento, da livelli plasmatici di c-LDL spesso superiori a 13 mmol/L dalla nascita e quasi universalmente dallo sviluppo precoce di ASCVD nell'infanzia o nell'adolescenza (14). Anche se l'espressione fenotipica della FH è variabile, il carico aterosclerotico e il rischio di eventi cardiovascolari sia nei soggetti con HeFH che in quelli con HoFH sono proporzionali sia alla entità assoluta che alla durata dell'esposizione a livelli di c-LDL elevati (15, 17, 18).

All'interno di ogni famiglia interessata, ciascun bambino ha una probabilità, uguale e casuale, del 50% di ereditare una mutazione che causa FH. Il fatto che i fratelli che ereditano una mutazione FH abbiano livelli di c-LDL nel plasma notevolmente elevati e un rischio *lifetime* corrispondentemente elevato e dose-dipendente di ASCVD rispetto ai loro fratelli non affetti fornisce una forte evidenza che le LDL provochino ASCVD (19). Questa conclusione è sostanzialmente rafforzata da osservazioni complementari che le mu-

tazioni GOF in *PCSK9* portano ad una elevata concentrazione di c-LDL e ad un corrispondente rischio elevato di ASCVD, mentre le mutazioni LOF in *PCSK9* comportano una minore concentrazione di c-LDL e un corrispondente minor rischio di ASCVD (20).

Evidenze dagli studi epidemiologici prospettici

Diverse metanalisi di studi epidemiologici osservazionali prospettici che utilizzano dati individuali hanno coerentemente segnalato un'associazione log-lineare continua tra l'entità assoluta dell'esposizione a livelli di c-LDL plasmatici e il rischio di ASCVD.

L'Emerging Risk Factors Collaboration (ERFC) ha riportato i risultati di una metanalisi dei dati individuali di 302.430 persone senza malattia vascolare prevalente al momento dell'arruolamento in 68 studi prospettici durante i quali sono stati registrati 8857 IM non fatali e 928 decessi per malattia cardiaca coronarica (CHD) per oltre 2,79 milioni di anni-persone di follow-up (21). In questi studi la concentrazione plasmatica di c-LDL era associata linearmente con un aumento del rischio di morte per CHD o di IM non fatale. Sebbene l'analisi primaria riguardasse l'associazione tra la concentrazione del colesterolo non HDL e il rischio di CHD, tutti gli studi inclusi in questa metanalisi avevano misurato il colesterolo totale, il colesterolo nelle lipoproteine ad alta densità (c-HDL) e i trigliceridi, e avevano calcolato la concentrazione di c-LDL dall'equazione di Friedewald. Gli autori dell'ERFC sottolineano che qualsiasi modello di regressione che includa termini per non-c-HDL, c-HDL e trigliceridi è un semplice riordino matematico di un modello che includa termini per c-LDL calcolato, c-HDL e trigliceridi.

Pertanto, nell'analisi dell'ERFC, l'effetto del c-LDL è esattamente uguale all'effetto del non-c-HDL sul rischio di CHD per definizione. Gli autori hanno confermato questo fatto dimostrando che in un sottoinsieme di 8 studi che hanno coinvolto 44.234 individui, l'effetto del c-LDL direttamente misurato sul rischio di CHD era quasi identico all'effetto del non-c-HDL (e del c-LDL calcolato) per millimole/litro.

Allo stesso modo, la Prospective Studies Collaboration ha riportato una metanalisi dei dati individuali di 892.337 persone senza malattie cardiovascolari al basale che erano state incluse in 61 studi prospettici di coorte, durante i quali si sono avute 33.744 morti per malattie cardiache ischemiche in quasi 12 milioni di anni-persona di follow-up. Questa metanalisi ha riportato un'associazione log-lineare forte e graduale tra il colesterolo plasmatico totale e il rischio di mortalità ischemica (22). Da notare, in un sotto-campione di 153.798 partecipanti per i quali erano disponibili misure di c-HDL, l'effetto del non-c-HDL sul rischio di mortalità per malattia cardiaca ischemica era quasi identico all'effetto del colesterolo totale per millimole/litro.

Insieme, queste metanalisi di studi epidemiologici di coorte prospettici forniscono prove coerenti e concordanti che la concentrazione del c-LDL plasmatica è fortemente associata ad un incremento dose-dipendente del rischio di eventi da ASCVD incidenti (*Figura 2*).

Evidenze dagli studi di randomizzazione mendeliana

Sebbene l'associazione tra c-LDL e rischio di ASCVD sia forte, graduale e riproducibile in metanalisi di studi di coorte prospettici, questi studi non sono randomizzati e sono quindi inevitabilmente suscettibili a confondimento, causalità

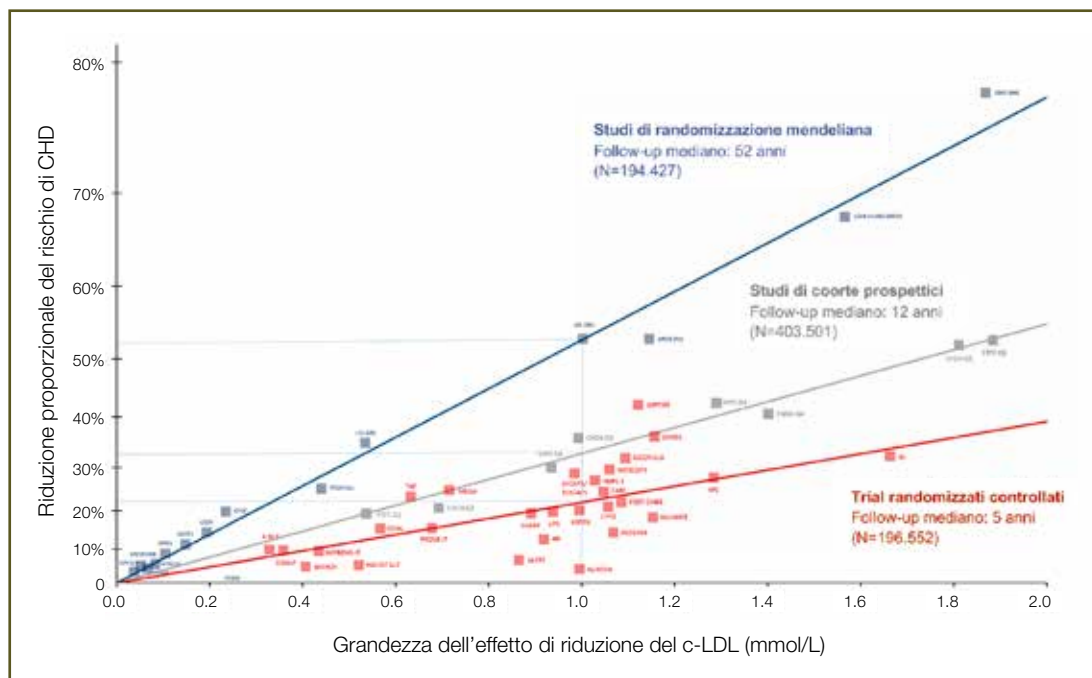


Figura 2 - L'associazione log-lineare per unità di colesterolo nelle lipoproteine a bassa densità (c-LDL) e il rischio di malattie cardiovascolari, come riportato in metanalisi di studi di randomizzazione mendeliana, studi epidemiologici di coorte prospettici e studi clinici randomizzati. La crescente pendenza dell'associazione log-lineare con l'aumento del tempo di follow-up implica che il c-LDL ha sia un effetto causale che un effetto cumulativo sul rischio di malattie cardiovascolari. La riduzione del rischio proporzionale (in ordinata) è calcolata come $1 - \text{rischio relativo}$ (stimato dall'odds ratio negli studi di randomizzazione mendeliana o dall'hazard ratio negli studi epidemiologici prospettici e nei trial randomizzati) su scala logaritmica, quindi esponenziato e convertito in percentuale. Le metanalisi incluse sono state identificate da:

1. MEDLINE ed EMBASE, utilizzando 'meta-analysis', 'LDL' e 'cardiovascular or coronary' come termini di ricerca;
2. le bibliografie delle metanalisi identificate;
3. i dati pubblici dei consorzi GWAS;
4. discussione con i membri del gruppo di consenso EAS. Sono state incluse le metanalisi più aggiornate disponibili, preferendo quelle che utilizzavano dati individuali.

Acronimi dei trial: AF/TexCAPS, Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study; ALERT, Assessment of LEscol in Renal Transplantation; ALLHAT-LLT, Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial Lipid Lowering Trial; ALLIANCE, Aggressive Lipid-Lowering Initiation Abates New Cardiac Events; ASPEN, Atorvastatin Study for Prevention of Coronary Heart Disease Endpoints in non-insulin-dependent diabetes mellitus; ASCOT LLA, Anglo Scandinavian Cardiac Outcomes Trial Lipid Lowering Arm; AURORA, A Study to Evaluate the Use of Rosuvastatin in Subjects on Regular Hemodialysis: An Assessment of Survival and Cardiovascular Events; CARE, Cholesterol and Recurrent Events; CARDS, Collaborative Atorvastatin Diabetes Study; CHGN, Community Health Global Network; 4D Deutsche Diabetes Dialyse Studies; ERFC, Emerging Risk Factors Collaboration; GISSI, Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico; HOPE, Heart Outcomes Prevention Evaluation Study; HPS, Heart Protection Study; IDEAL, Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering; IMPROVE-IT, Examining Outcomes in Subjects With Acute Coronary Syndrome: Vytorin (Ezetimibe/Simvastatin) vs Simvastatin; JUPITER, Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin trial; LIPID, Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease; LIPS, Lescol Intervention Prevention Study; MEGA, Management of Elevated Cholesterol in the Primary Prevention Group of Adult Japanese; POST-CABG, Post Coronary Artery Bypass Graft; PROSPER, Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease; PROVE-IT, Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy; SHARP, Study of Heart and Renal Protection; TNT, Treating to New Targets; WOSCOPS, West of Scotland Coronary Prevention Study.

inversa e altre forme di bias. Gli studi di randomizzazione mendeliana introducono uno schema di randomizzazione in uno studio osservazionale specificatamente per valutare se un'associazione osservata tra un'esposizione e un esito possa essere causale (23).

Per numerose varianti di diversi geni sono state riportate associazioni a bassi livelli di c-LDL (24, 25). Ciascuna di queste varianti è ereditata casualmente al momento del concepimento, in un processo talvolta definito come "randomizzazione mendeliana". Pertanto, ereditare un allele che riduca le LDL in uno di questi geni è analogo ad essere assegnato in modo casuale al trattamento con una terapia di abbassamento delle LDL, mentre l'ereditarietà dell'altro allele è analoga all'essere assegnato casualmente alla "cura standard". Se la variante in studio è associata esclusivamente al c-LDL e non ad altri effetti pleiotropici sui lipidi o su altri target e se l'allocazione è effettivamente casuale, confrontare il rischio di ASCVD tra le persone con e senza tale variante dovrebbe fornire una stima non affetta da confondimento dell'effetto causale di bassi livelli di c-LDL sul rischio di ASCVD in modo analogo a un trial randomizzato a lungo termine (26).

Gli studi di randomizzazione mendeliana hanno dimostrato costantemente che varianti in oltre 50 geni associate a bassi livelli di c-LDL (ma non ad altri potenziali predittori di ASCVD) sono associati anche ad un corrispondente ridotto rischio di CHD (20, 27-30), fornendo una potente evidenza che le LDL siano causalmente associate al rischio di CHD. Infatti, correlando l'effetto di ciascuna variante influenzante il c-LDL viene correlata al suo effetto sul rischio di CHD, si osserva un'associazione causale continua, dose-dipendente e log-lineare tra l'entità della variazione as-

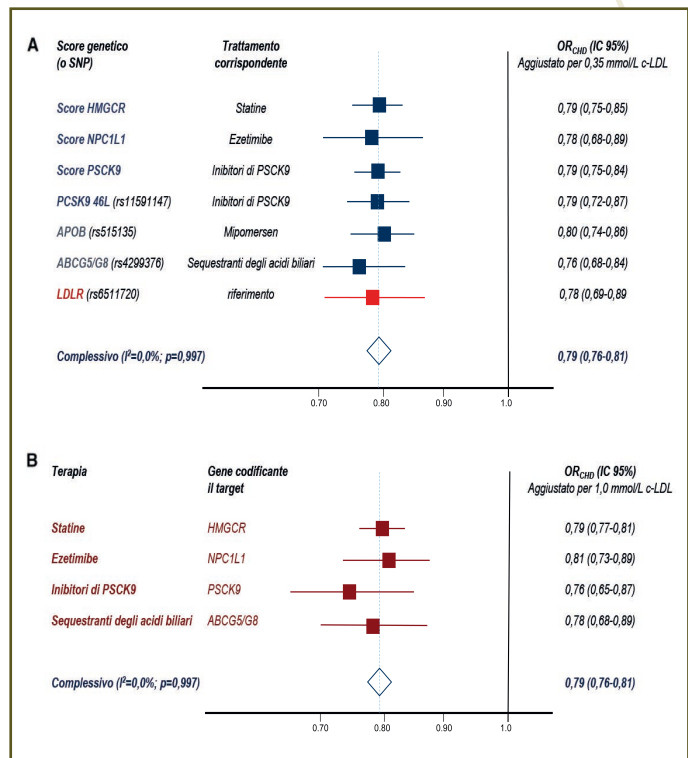


Figura 3 - Effetto dell'esposizione a bassi livelli di colesterolo nelle lipoproteine a bassa densità (c-LDL) per meccanismo di abbassamento del c-LDL.

Il pannello A mostra l'effetto delle varianti genetiche o dei punteggi genetici che combinano varianti multiple nei geni che codificano per i bersagli delle terapie attualmente disponibili per il c-LDL, aggiustate per un decremento standard di c-LDL di 0,35 mmol/L, rispetto all'effetto della riduzione del c-LDL mediata da varianti nel gene del recettore LDL.

Il pannello B mostra l'effetto delle terapie attualmente disponibili che agiscono principalmente riducendo il c-LDL attraverso il pathway del recettore LDL, aggiustato per riduzione del c-LDL in millimole/litro.

Sia i dati genetici naturalmente randomizzati nel pannello A che i dati provenienti da studi randomizzati nel pannello B suggeriscono che l'effetto del c-LDL sul rischio di eventi cardiovascolari è approssimativamente lo stesso per unità di variazione nel c-LDL qualunque sia il meccanismo che abbassa il c-LDL attraverso l'up-regolazione del recettore LDL, dove la variazione del c-LDL (utilizzata nella medicina clinica per stimare la modifica della concentrazione di particelle LDL) è probabilmente concorde con i cambiamenti nella concentrazione delle particelle LDL.

Insieme, metanalisi degli studi di randomizzazione mendeliana che coinvolgono più di 300.000 partecipanti e 80.000 casi di CHD forniscono prove convincenti che le LDL siano causalmente associate al rischio di ASCVD e che l'effetto causale delle LDL sulla ASCVD sia largamente indipendente dal meccanismo ipolipemizzante.

soluta del livello c-LDL e il rischio *lifetime* di CHD (*Figura 2*) (28, 30).

Inoltre, aggiustando per un decremento standard nel c-LDL, ognuna delle varianti genetiche associate a c-LDL ha un effetto notevolmente simile sul rischio di CHD per unità di riduzione del c-LDL, incluse varianti nei geni che codificano i bersagli degli agenti farmacologici comunemente usati per abbassare il c-LDL [cioè, 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR), il target delle statine; Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1), il target di ezetimibe; proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), il target degli anticorpi monoclonali alirocumab e evolocumab; *Figura 3*], senza alcuna evidenza di eterogeneità dell'effetto ($I^2=0\%$) (28, 30, 31). Questa osservazione implica fortemente che l'effetto causale di queste varianti sul rischio di CHD sia essenzialmente mediato interamente dalle LDL, poiché è improbabile che varianti in diversi geni che comportano una riduzione delle LDL coinvolgendo molteplici percorsi

biologici abbiano ciascuno effetti pleiotropici diretti concordanti e quantitativamente simili sul rischio di ASCVD.

Evidenze dai trial clinici randomizzati e controllati

Forse le prove cliniche più convincenti della causalità sono fornite dagli studi clinici randomizzati che hanno valutato l'effetto delle terapie di riduzione delle LDL sul rischio di eventi cardiovascolari (la *Figura 4* mostra i principali siti di azione degli interventi terapeutici che agiscono principalmente riducendo le LDL). È importante però notare che l'interpretazione di ogni singolo trial può essere sostanzialmente influenzata dal suo disegno. In generale, gli studi sottodimensionati (per la piccola numerosità del campione o per i pochi eventi accumulati), che non producono una sostanziale differenza nella concentrazione del c-LDL tra i bracci di trattamento, e quelli con follow-up a breve termine (2 anni o meno) più probabilm-

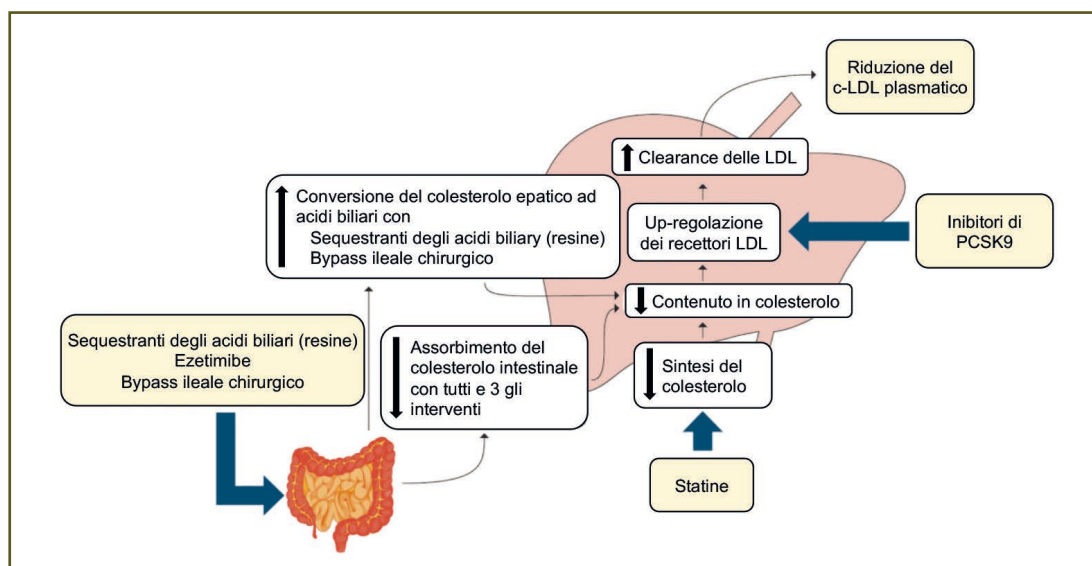


Figura 4 - Schema delle terapie che agiscono prevalentemente riducendo la lipoproteina a bassa densità (LDL) attraverso le vie metaboliche del recettore LDL, allo scopo di up-regolare i recettori LDL e quindi aumentare la clearance delle LDL.

te produrranno risultati che non mostrano differenze statisticamente significative. Inoltre, alcune terapie che riducono il c-LDL (ad esempio, gli estrogeni) hanno anche effetti negativi che aumentano il rischio di ASCVD, e ciò può attenuare o eliminare il beneficio clinico dell'abbassamento del c-LDL. Un eccessivo peso dato all'interpretazione di questi singoli trial può portare a conclusioni distorte. Per questo motivo, gli autori hanno focalizzato l'attenzione sulla totalità delle prove derivate da metanalisi di studi randomizzati.

In una metanalisi dei dati individuali di 26 trial sulle statine, che hanno coinvolto quasi 170.000 individui, il trattamento con una statina era associato ad una riduzione proporzionale log-lineare del 22% del rischio di eventi cardiovascolari maggiori per ogni millimole/litro di riduzione del c-LDL su una mediana di 5 anni di trattamento (32). L'effetto era meno marcato durante il primo anno di trattamento, poi seguito da una consistente riduzione proporzionale del 22-24% nel rischio di eventi cardiovascolari per millimole/litro di riduzione del c-LDL durante ogni anno successivo di trattamento (33). La grandezza di questo effetto era indipendente dal livello di c-LDL al basale, simile tra persone con e senza malattia cardiovascolare preesistente al basale, e notevolmente coerente in tutti i sottogruppi studiati (32, 33). Questa metanalisi fornisce quindi potenti evidenze che la riduzione dei livelli di c-LDL del plasma mediante inibizione della HMG-CoA reduttasi con una statina porta alla riduzione dose-dipendente del rischio di eventi cardiovascolari maggiori proporzionale all'entità assoluta della riduzione del c-LDL (*Figura 2*).

In particolare, nei trial con statine, il tasso annuo assoluto di eventi in ciascun braccio di trattamento mostrava una forte associazione lineare con il livello assoluto

di c-LDL raggiunto (*Figura 5A*) (34). In questi studi, le concentrazioni di c-LDL e apoB avevano effetti molto simili sul rischio di eventi cardiovascolari per millimole/litro, confermando quindi che il c-LDL sia un soddisfacente surrogato per il numero di particelle LDL nella maggior parte delle circostanze. Inoltre, studi su *ultrasound* intravascolare di aterosclerosi coronarica che hanno coinvolto pazienti trattati con statine hanno dimostrato costantemente che la progressione del volume della placca aterosclerotica coronaria può essere sostanzialmente arrestata raggiungendo livelli di c-LDL di circa 1,8 mmol/L (70 mg/dL) (*Figura 5B*) (35, 36).

Va notato che altre terapie che riducono il c-LDL senza inibire la HMG-CoA reduttasi hanno dimostrato di ridurre il rischio di eventi cardiovascolari in grandi studi randomizzati su outcome cardiovascolari. Ezetimibe inibisce l'assorbimento intestinale del colesterolo legandosi al trasportatore NPC1L1 (37). Tra 18.144 persone con sindrome coronarica acuta arruolate nel trial IMPROVE-IT, il trattamento con ezetimibe più una statina rispetto alla monoterapia con statina ha ridotto i livelli di c-LDL di 0,40 mmol/L durante l'intera durata del trial, e questo effetto era associato a una riduzione proporzionale del 6,5% nell'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori (38). Altre evidenze a supporto sono emerse dal trial SHARP, su 9.270 persone con malattia renale cronica in cui è stato confrontato il trattamento di combinazione simvastatina ed ezetimibe con placebo. Il trattamento combinato ha ridotto i livelli di c-LDL di 0,85 mmol/L (33 mg/dL) e l'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori del 17% rispetto al placebo (39). In entrambi gli studi, l'entità della riduzione proporzionale del rischio era coerente con i benefici clinici che sarebbero attesi da simili riduzioni assolute di c-LDL durante

il trattamento con statina in monoterapia. Questi dati suggeriscono che statine ed ezetimibe hanno effetti terapeuticamente equivalenti sul rischio di eventi cardiovascolari per riduzione unitaria del c-LDL (Figura 3B). I risultati concordano anche con i dati genetici naturalmente randomizzati, che hanno dimostrato che le varianti nei geni HMGCR e NPC1L1 hanno effetti biologicamente equivalenti sul rischio di malattia cardiovascolare per riduzione unitaria del c-LDL (31, 40) (Figura 3A).

Inoltre, tra 27.564 pazienti con malattia cardiovascolare arruolati nel recente trial FOURIER, il trattamento con l'anticorpo monoclonale PCSK9 evolocumab aggiunto a una statina ha ridotto il c-LDL di 1,4 mmol/L (53,4 mg/dL), fino a un livello medio di 0,78 mmol/L (30 mg/dL), e ha ridotto l'incidenza di morte per cause cardiovascolari, IM o ictus del 20% durante un follow-up mediano di 2,2 anni (41, 42). Analizzato per ogni anno di trattamento, evolocumab mostrava effetti identici sul rischio

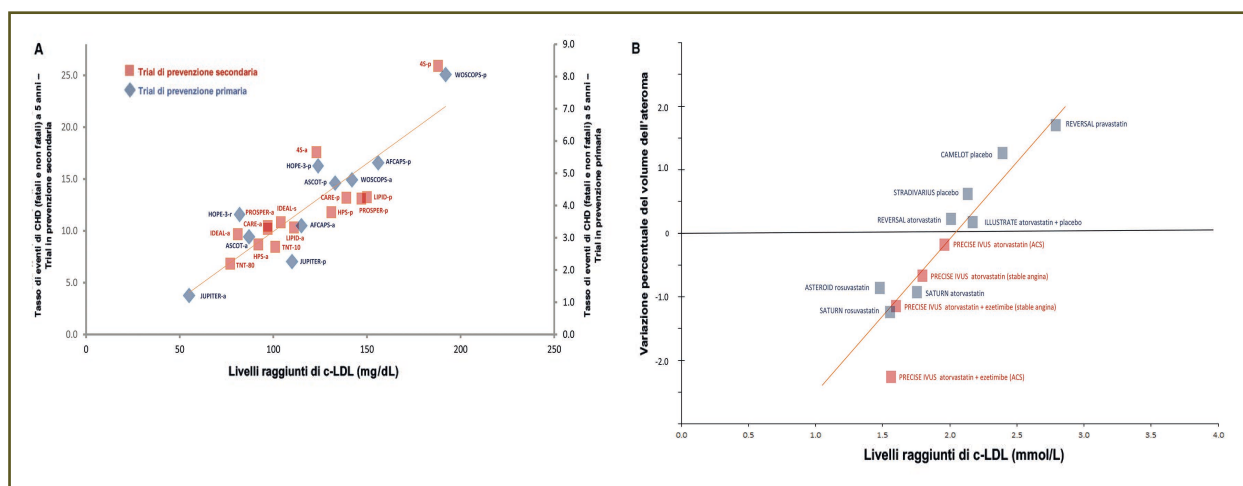


Figura 5 - Associazione lineare tra il livello raggiunto di colesterolo nelle lipoproteine a bassa densità (c-LDL) e la frequenza assoluta di eventi coronarici (CHD) o la progressione dell'aterosclerosi.

Il pannello A mostra i tassi assoluti di eventi cardiovascolari in studi randomizzati di statina e il pannello B mostra la progressione dell'aterosclerosi misurata da ultrasound intravascolare.

Nel pannello A, il c-LDL ottenuto nei trial di prevenzione primaria e nei trial di prevenzione secondaria su pazienti con CHD stabile era correlato all'end point degli eventi di CHD (infarto miocardico fatale e non-fatale, morte improvvisa per CHD) proporzionale a 5 anni, assumendo un andamento lineare dei tassi nel tempo. I trend delle associazioni per la prevenzione primaria e la prevenzione secondaria sono praticamente sovrapponibili.

p, placebo; A, braccio attivo di trattamento, ad eccezione di IDEAL, dove s, simvastatina e a, atorvastatina; HOPE-3, dove r, rosuvastatina; TNT dove il riferimento era atorvastatina 10 e 80 mg.

Acronimi dei trial: AFCAPS, Air Force Coronary Atherosclerosis Prevention Study; ASCOT, Anglo Scandinavian Cardiac Outcomes Trial; ASTERIOD, A Study To Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden; CARE, Cholesterol and Recurrent Events; CAMELOT, Comparison of Amlodipine vs Enalapril to Limit Occurrence of Thrombosis; HOPE, Heart Outcomes Prevention Evaluation Study; HPS, Heart Protection Study; IDEAL, Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering; ILLUSTRATE, Investigation of Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound To Assess Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL Elevation; JUPITER, Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin trial; LIPID, Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease; PRECISE IVUS, Plaque REgression with Cholesterol absorption Inhibitor or Synthesis inhibitor Evaluated by IntraVascular UltraSound; PROSPER, Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease; REVERSAL, Reversal of Atherosclerosis With Aggressive Lipid Lowering; 4S Scandinavian Simvastatin Survival Study; SATURN, Study of Coronary Atheroma by Intravascular Ultrasound: Effect of Rosuvastatin vs Atorvastatin; STRADIVARIUS, Strategy To Reduce Atherosclerosis Development In Volving Administration of Rimobant-the Intravascular Ultrasound Study; TNT, Treating to New Targets; WOSCOPS, West Of Scotland Coronary Prevention Study.

di diversi *end point* cardiovascolari per ogni millimole/litro di riduzione del c-LDL rispetto al trattamento con una statina, come riportato dal Cholesterol Treatment Trialists Collaboration (31). I risultati di questo studio sono notevolmente coerenti con i risultati di un recente studio di randomizzazione mendeliana che ha mostrato che le varianti nei geni *PCSK9* e *HMGCR* hanno effetti quasi identici sul rischio di eventi cardiovascolari per unità di riduzione del c-LDL, e quindi prevedono accuratamente l'effetto di inibitori di PCSK9 sul rischio di eventi cardiovascolari, una riduzione equivalente a quella osservata con le statine per riduzione unitaria del c-LDL (43). I risultati del trial FOURIER sono anche coerenti con i risultati del recente studio GLAGOV, in cui è stato aggiunto un trattamento con evolocumab a una statina, riducendo i livelli di c-LDL di 1,45 mmol/L e inducendo una regressione della placca che sembra essere direttamente proporzionale al livello assoluto di c-LDL, anche a livelli di c-LDL fino a 0,95 mmol/L (36,6 mg/dL) (44). Considerati insieme, i risultati di questi studi suggeriscono fortemente che gli inibitori di PCSK9 e le statine hanno effetti biologicamente equivalenti sul rischio di eventi cardiovascolari per unità di riduzione del c-LDL.

Inoltre, nel Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial, il trattamento con colestiramina, resina sequestrante degli acidi biliari, ha ridotto il c-LDL di 0,7 mmol/L e il rischio relativo di morte per cause cardiovascolari o di IM del 19% (45). Analogamente, nello studio Program on Surgical Control of Hyperlipidemia (POSCH), la chirurgia del bypass ileale ha ridotto il c-LDL di 1,85 mmol/L e il rischio relativo di morte cardiovascolare o IM del 35% (46). In entrambi gli studi la riduzione del rischio osservata era coerente con la riduzione

proporzionale del rischio per unità di riduzione del c-LDL osservata durante il trattamento con una statina o con statina combinata a ezetimibe (*Figura 2*). Infatti, in una recente metanalisi di 49 studi in cui sono stati confrontati gli effetti di 9 diversi tipi di terapie che riducono i lipidi, su un totale di 312.175 partecipanti e 39.645 eventi vascolari maggiori, quasi tutti gli approcci terapeutici ipolipemizzanti sono stati associati ad una coerente riduzione proporzionale del 20-25% nel tasso di eventi vascolari per millimole/litro di riduzione del c-LDL (47). Questi risultati sono in linea con quelli degli studi di randomizzazione mendeliana e dimostrano che il beneficio clinico dell'abbassamento del c-LDL sembra indipendente dal meccanismo ipolipemizzante (*Figura 3*).

L'eccezione a questa constatazione è l'effetto degli inibitori della proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP). Nel trial ACCELERATE recentemente pubblicato, l'inibitore del CETP evacetrapib più una statina ha ridotto il c-LDL di 0,75 mmol/L rispetto alla monoterapia con statina, ma non ha ridotto il rischio di eventi cardiovascolari (48). Ad oggi non c'è una spiegazione per questa evidenza, anche se un aumento medio di 1,5 mmHg nella pressione arteriosa sistolica e/o possibili fenotipi HDL disfunzionali potrebbero aver contribuito all'aumento del rischio di CHD. Inoltre, l'effetto di riduzione delle particelle di LDL da parte degli inibitori della CETP sembra attenuato quando un agente di questa classe viene aggiunto a una statina, portando così a una discordanza tra la riduzione del c-LDL e la riduzione di apoB (48). Il trial REVEAL con l'inibitore CETP anacetrapib, tuttora in corso su 30.000 persone, fornirà una dimostrazione decisiva dell'effetto dell'aggiunta di un inibitore del CETP a una statina sul rischio di eventi cardiovascolari.

Criteria di causalità

Una valutazione critica delle evidenze discusse in questa revisione dimostra che l'associazione tra la concentrazione di c-LDL nel plasma e il rischio di ASCVD soddisfa tutti i criteri di causalità (*Tabella 1*) (49). Infatti, gli studi epidemiologici prospettici, gli studi di randomizzazione mendeliana e gli studi di intervento randomizzati dimostrano tutti una associazione log-lineare dose-dipendente fortemente consistente tra l'entità assoluta dell'esposizione a c-LDL e il rischio di ASCVD, e insieme dimostrano che l'effetto del c-LDL sul rischio di ASCVD aumenta con una maggiore durata dell'esposizione (*Figura 2*). Questa concordanza tra molteplici tipologie di evidenze, in particolare la notevole congruenza tra i dati genetici naturalmente randomizzati non affetti da bias e i risultati di numerosi studi di intervento randomizzati che hanno utilizzato diversi agenti per ridurre il c-LDL, fornisce una prova clinica straordinaria che le LDL provochino ASCVD e che abbassando le LDL si riduca il rischio di eventi cardiovascolari.

Evidenze dall'effetto cumulativo dell'esposizione alle LDL sul rischio di ASCVD

Studi di randomizzazione mendeliana suggeriscono che l'esposizione a lungo termine a ridotte LDL è associata a una riduzione proporzionale del rischio di malattia cardiovascolare, per unità di riduzione del c-LDL, tre volte superiore rispetto al trattamento a breve termine con una statina iniziata più tardi nella vita, dopo che il processo aterosclerotico si è già avviato (28). Questo risultato suggerisce che l'effetto causale delle LDL sul rischio di ASCVD è determinato sia dalla grandez-

za assoluta che dalla durata cumulativa dell'esposizione al c-LDL, coerentemente con il crescente beneficio osservato nel tempo durante il follow-up a lungo termine del trial WOSCOPS (50).

Poiché l'effetto del c-LDL sul rischio di ASCVD sembra causale e cumulativo nel tempo, la riduzione del livello di c-LDL nel plasma prima di quanto attualmente sia raccomandato può comportare riduzioni proporzionalmente maggiori del rischio *lifetime* di ASCVD rispetto a quanto stimato in studi randomizzati a breve termine. L'integrazione delle evidenze disponibili dagli studi di randomizzazione mendeliana e da studi randomizzati suggerisce che ogni millimole/litro di riduzione del c-LDL riduce il rischio relativo di eventi ASCVD di circa il 10% durante il primo anno di trattamento, di circa il 16% dopo due anni di trattamento e di circa il 20% dopo tre anni di trattamento, presumibilmente in correlazione alla stabilizzazione del quadro complessivo in termini di placche aterosclerotiche (33). Ogni successivo anno di trattamento dopo il terzo potrebbe quindi prevedere un'ulteriore riduzione proporzionale dell'1,5% negli eventi ASCVD per millimole/litro all'anno (*Tabelle 2-4*).

Pertanto, 5 anni di trattamento con un agente ipolipemizzante dovrebbero ridurre il rischio relativo di ASCVD di circa il 20-25% per millimole/litro di riduzione del c-LDL, mentre 40 anni di trattamento (o circa 40 anni di esposizione a basso c-LDL) dovrebbe ridurre gli eventi ASCVD di circa il 50-55% per millimole/litro di riduzione del c-LDL (*Figura 2*).

Raccomandazioni per il trattamento

Le evidenze indicano chiaramente che la riduzione del c-LDL aumentando il nu-

mero di recettori LDL epatici può ridurre il rischio di ASCVD (Figura 4). Poiché la riduzione del c-LDL dovrebbe avere un effetto costante sul rischio di ASCVD per riduzione unitaria assoluta di c-LDL, e poiché le LDL hanno un effetto causale e cumulativo sul rischio di ASCVD, la riduzione proporzionale del rischio che una persona può aspettarsi riducendo il c-LDL dipenderà dal livello di c-LDL basale di quella persona, dall'entità assoluta della riduzione del c-LDL e dalla durata della terapia. Allo stesso modo, la riduzione assoluta del rischio che una persona può aspet-

tarsi dalla riduzione del c-LDL dipenderà dal rischio basale di ASCVD, dal livello di c-LDL basale, dall'entità assoluta della riduzione del c-LDL e dalla durata della terapia di riduzione del c-LDL.

Le Tabelle 2-4 forniscono stime del potenziale beneficio clinico che può essere ottenuto abbassando la concentrazione plasmatica di c-LDL in funzione del rischio di ASCVD basale, del c-LDL basale e della durata della terapia ipolipemizzante; il beneficio clinico è espresso sia come riduzione percentuale che come riduzione assoluta del rischio.

Tabella 2 - Riduzione proporzionale del rischio in base al livello di colesterolo LDL (c-LDL) pre-trattamento, entità assoluta della riduzione del c-LDL e durata totale della terapia.

| Basale c-LDL (mmol/L) | Riduzione assoluta c-LDL (mmol/L) | Riduzione proporzionale attesa del rischio (%) in base alla durata di esposizione al trattamento | | | | | Trattamento raccomandato dalle linee guida (51, 52) |
|-----------------------|-----------------------------------|--|---------|---------|---------|---------|--|
| | | 5 anni | 10 anni | 20 anni | 30 anni | 40 anni | |
| 7 | 3,5 | 58 | 68 | 81 | 89 | 93 | Sì (a causa dei livelli marcatamente elevati di c-LDL) |
| 7 | 3,0 | 53 | 62 | 76 | 85 | 90 | |
| 7 | 2,5 | 46 | 56 | 70 | 79 | 86 | |
| 7 | 2,0 | 39 | 48 | 61 | 71 | 79 | |
| 7 | 1,5 | 31 | 39 | 51 | 61 | 69 | |
| 5 | 2,5 | 46 | 56 | 70 | 79 | 86 | Sì (a causa dei livelli marcatamente elevati di c-LDL) |
| 5 | 2,0 | 39 | 48 | 61 | 71 | 79 | |
| 5 | 1,5 | 31 | 39 | 51 | 61 | 69 | |
| 5 | 1,0 | 22 | 28 | 38 | 46 | 54 | |
| 3 | 1,5 | 31 | 39 | 51 | 61 | 69 | Dipendentemente dal rischio di ASCVD |
| 3 | 1,0 | 22 | 28 | 38 | 46 | 54 | |
| 3 | 0,5 | 12 | 15 | 21 | 27 | 32 | |
| 2 | 1,0 | 22 | 28 | 38 | 46 | 54 | Dipendentemente dal rischio di ASCVD |
| 2 | 0,5 | 12 | 15 | 21 | 27 | 32 | |

Raccomandazioni per il trattamento: beneficio clinico atteso per riduzioni unitarie del c-LDL espresso come riduzione proporzionale attesa del rischio (%).

La riduzione proporzionale del rischio nel breve termine è basata su una riduzione attesa del 22% del rischio per ogni riduzione di 1 mmol/L del c-LDL a 5 anni, come stimato dai trial randomizzati e calcolato come $[(1-0,78(\text{riduzione assoluta del c-LDL in mmol/L}) \times 100)]$.

La riduzione proporzionale del rischio nel lungo termine è basata su una riduzione attesa del 54% del rischio per ogni riduzione di 1 mmol/L del c-LDL a 40 anni, come stimato dagli studi di randomizzazione mendeliana e calcolato come $[(1-0,46(\text{riduzione assoluta del c-LDL in mmol/L}) \times 100)]$.

La riduzione proporzionale attesa del rischio per ogni riduzione di 1 mmol/L del c-LDL per una durata specifica del trattamento è calcolato come: $[(1-e^{-(0,249+(\text{numero di anni di trattamento}-5) \times (-0,0152)}) \times 100)]$.

ASCVD: malattia cardiovascolare aterosclerotica.

I medici possono utilizzare queste informazioni per discutere con i propri pazienti circa i potenziali benefici dell'abbassamento del c-LDL sulla base dell'effetto causale delle LDL nel definire il rischio di ASCVD.

Impatto di altre esposizioni sull'effetto causale delle LDL nella ASCVD

Oltre alle LDL, sono state riportate diverse altre esposizioni associate al ri-

schio di ASCVD, tra cui elevata pressione arteriosa sistolica, diabete e fumo di tabacco. Sia gli studi di randomizzazione mendeliana che le metanalisi di studi randomizzati dimostrano che i cambiamenti del c-LDL hanno un effetto proporzionale molto coerente sul rischio di ASCVD a diversi livelli di vari fattori di rischio. Di conseguenza, una determinata riduzione assoluta di c-LDL è associata a una riduzione proporzionale del rischio di ASCVD indipendentemente

Tabella 3 - Riduzione del rischio assoluto (absolute risk reduction, AAR) prevista a breve termine e numero necessario da trattare per evitare un evento (number needed to treat, NNT) in base al rischio assoluto basale di malattia cardiovascolare e dei livelli di colesterolo LDL (c-LDL) pre-trattamento con 5 anni di trattamento ipolipemizzante.

| Rischio assoluto di CVD a 10 anni (%) | c-LDL basale mmol/L (mg/dL) | c-LDL dopo riduzione del 50% mmol/L (mg/dL) | Riduzione proporzionale del rischio (%) | Rischio assoluto di CVD a 10 anni (%) dopo riduzione del 50% del c-LDL | ARR (%) | NNT | Trattamento raccomandato dalle linee guida (51, 52) |
|---------------------------------------|-----------------------------|---|---|--|---------|------|---|
| 20 | 5 (200) | 2,5 (100) | 42,8 | 11,4 | 8,6 | 11,7 | Sì (in base al rischio di ASCVD a 10 anni) |
| 20 | 4 (160) | 2,0 (80) | 36 | 12,8 | 7,2 | 13,9 | |
| 20 | 3 (120) | 1,5 (60) | 28,4 | 14,3 | 5,7 | 17,6 | |
| 20 | 2 (80) | 1,0 (40) | 20 | 16 | 4 | 25 | |
| 15 | 5 (200) | 2,5 (100) | 42,8 | 8,6 | 6,4 | 15,6 | Sì (in base al rischio di ASCVD a 10 anni) |
| 15 | 4 (160) | 2,0 (80) | 36 | 9,6 | 5,4 | 18,5 | |
| 15 | 3 (120) | 1,5 (60) | 28,4 | 10,7 | 4,3 | 23,4 | |
| 15 | 2 (80) | 1,0 (40) | 20 | 12 | 3 | 33,3 | |
| 10 | 5 (200) | 2,5 (100) | 42,8 | 5,7 | 4,3 | 23,4 | Sì (in base al rischio di ASCVD a 10 anni) |
| 10 | 4 (160) | 2,0 (80) | 36 | 6,4 | 3,6 | 27,8 | |
| 10 | 3 (120) | 1,5 (60) | 28,4 | 7,2 | 2,8 | 35,2 | |
| 10 | 2 (80) | 1,0 (40) | 20 | 8 | 2 | 50 | |
| 5 | 5 (200) | 2,5 (100) | 42,8 | 2,9 | 2,1 | 46,8 | No (in base al rischio di ASCVD a 10 anni) |
| 5 | 4 (160) | 2,0 (80) | 36 | 3,2 | 1,8 | 55,6 | |
| 5 | 3 (120) | 1,5 (60) | 28,4 | 3,6 | 1,4 | 70,3 | |
| 5 | 2 (80) | 1,0 (40) | 20 | 4 | 1 | 100 | |

Raccomandazioni per il trattamento: beneficio clinico atteso per riduzioni unitarie del c-LDL.

La riduzione proporzionale del rischio nel breve termine è basata su una riduzione attesa del 22% del rischio per ogni riduzione di 1 mmol/L del c-LDL a 5 anni, come stimato dai trial randomizzati e calcolato come $[(1-0,78(\text{riduzione assoluta del c-LDL in mmol/L})) \times 100]$.

La riduzione assoluta del rischio è calcolata come $[\text{ARR} = \text{Colonna 1} - \text{Colonna 5}]$; il NNT è calcolato come $[(1 \div \text{ARR}) \times 100]$.

CVD: malattia cardiovascolare; ASCVD: malattia cardiovascolare aterosclerotica; ARR: riduzione del rischio assoluto; NNT: numero necessario da trattare per evitare un evento.

dalla presenza o assenza di altri fattori di rischio. Tuttavia, poiché nelle persone con più fattori di rischio si ha un tasso assoluto più elevato di ASCVD, una stessa riduzione proporzionale del rischio per millimole/litro di c-LDL si traduce in una maggiore riduzione del rischio assoluto; questo avviene in soggetti con molteplici fattori di rischio così come, in generale, tra le persone che presentano un rischio più elevato di malattie cardiovascolari.

Infine, un'importante area della ricerca futura è volta a identificare le persone che hanno più probabilità di beneficiare delle terapie che riducono il c-LDL. La probabilità che le LDL siano trattenute all'interno dell'intima arteriosa, con conseguente sviluppo e progressione della placca aterosclerotica, aumenta al crescere della concentrazione delle particelle LDL circolanti (6). Poiché la ritenzione delle particelle LDL è un evento probabilistico, ci si aspetterebbe dunque che le persone con simili

Tabella 4 - Riduzione del rischio assoluto (absolute risk reduction, AAR) prevista a lungo termine e numero necessario da trattare per evitare un evento (number needed to treat, NNT) in base al rischio assoluto basale di malattia cardiovascolare e dei livelli di colesterolo LDL (c-LDL) pre-trattamento con 30 anni di trattamento ipolipemizzante.

| Rischio assoluto di CVD a 30 anni (%) | c-LDL basale mmol/L (mg/dL) | c-LDL dopo riduzione del 50% mmol/L (mg/dL) | Riduzione proporzionale del rischio (%) | Rischio assoluto di CVD a 30 anni (%) dopo riduzione del 50% del c-LDL | ARR (%) | NNT | Trattamento raccomandato dalle linee guida (51, 52) |
|---------------------------------------|-----------------------------|---|---|--|---------|------|---|
| 60 | 5 (200) | 2,5 (100) | 82,3 | 10,6 | 49,4 | 2 | Personalizzato (in base al rischio di ASCVD lifetime) |
| 60 | 4 (160) | 2,0 (80) | 75 | 15 | 45 | 2,2 | |
| 60 | 3 (120) | 1,5 (60) | 64,6 | 21,2 | 38,9 | 2,6 | |
| 60 | 2 (80) | 1,0 (40) | 50 | 30 | 30 | 3,3 | |
| 45 | 5 (200) | 2,5 (100) | 82,3 | 8 | 37 | 2,7 | Personalizzato (in base al rischio di ASCVD lifetime) |
| 45 | 4 (160) | 2,0 (80) | 75 | 11,3 | 33,8 | 3 | |
| 45 | 3 (120) | 1,5 (60) | 64,6 | 15,9 | 29,1 | 3,4 | |
| 45 | 2 (80) | 1,0 (40) | 50 | 22,5 | 22,5 | 4,4 | |
| 30 | 5 (200) | 2,5 (100) | 82,3 | 5,3 | 24,7 | 4 | Personalizzato (in base al rischio di ASCVD lifetime) |
| 30 | 4 (160) | 2,0 (80) | 75 | 7,5 | 22,5 | 4,4 | |
| 30 | 3 (120) | 1,5 (60) | 64,6 | 10,6 | 19,4 | 5,2 | |
| 30 | 2 (80) | 1,0 (40) | 50 | 15 | 15 | 6,7 | |
| 15 | 5 (200) | 2,5 (100) | 82,3 | 2,7 | 12,3 | 8,1 | Personalizzato (in base al rischio di ASCVD lifetime) |
| 15 | 4 (160) | 2,0 (80) | 75 | 3,8 | 11,3 | 8,9 | |
| 15 | 3 (120) | 1,5 (60) | 64,6 | 5,3 | 9,7 | 10,3 | |
| 15 | 2 (80) | 1,0 (40) | 50 | 7,5 | 7,5 | 13,3 | |

Raccomandazioni per il trattamento: beneficio clinico atteso per riduzioni unitarie del c-LDL.

La riduzione proporzionale del rischio nel lungo termine è basata su una riduzione attesa del 54% del rischio per ogni riduzione di 1 mmol/L del c-LDL a 40 anni, come stimato dagli studi di randomizzazione mendeliana e calcolato come $[(1-0,46(\text{riduzione assoluta del c-LDL in mmol/L})) \times 100]$.

La riduzione assoluta del rischio è calcolata come $[\text{ARR} = \text{Colonna 1} - \text{Colonna 5}]$; il NNT è calcolato come $[(1 \div \text{ARR}) \times 100]$ CVD: malattia cardiovascolare; ASCVD: malattia cardiovascolare aterosclerotica; ARR: riduzione del rischio assoluto; NNT: numero necessario da trattare per evitare un evento.

livelli di c-LDL abbiano una distribuzione simile del carico aterosclerotico sottostante, in termini di placca. In realtà, i fattori genetici possono condizionare la predisposizione di un soggetto alla ritenzione del c-LDL all'interno dell'intima arteriosa o influenzare il grado in cui la ritenzione delle particelle LDL innesca il processo infiammatorio o i cambiamenti ossidativi che influenzano la crescita della placca e la propensione alla rottura.

Infatti, molte delle varianti genetiche maggiormente associate alla ASCVD negli studi di associazione *genome-wide* (GWAS) sono in geni che codificano per componenti della parete arteriosa che possono modificare la suscettibilità alla ritenzione delle LDL o modificare le risposte all'accumulo di LDL all'interno della parete arteriosa (27). Questa ipotesi è coerente con i risultati di una metanalisi di trial sulle statine, in cui le persone nel più alto terzile di punteggio di rischio genetico di ASCVD ottenevano una maggiore riduzione proporzionale del rischio di eventi cardiovascolari per millimole/litro di riduzione del c-LDL rispetto a persone nel terzile più basso (53). Il punteggio genetico utilizzato in questo studio può aver incluso proprio varianti che portano ad una maggiore suscettibilità a trattenere le particelle LDL a livello della parete arteriosa. L'identificazione di fattori genetici e altri fattori che influenzano la probabilità di ritenzione delle particelle LDL nell'intima è un ambito di ricerca particolarmente attivo e può aiutare a personalizzare la prevenzione delle malattie cardiovascolari, individuando i soggetti più vulnerabili agli effetti deleteri del c-LDL e quindi con maggiori probabilità di beneficiare di terapie ipolipemizzanti.

Conclusioni

Considerate insieme, le evidenze forti e coerenti degli studi genetici, degli studi epidemiologici di coorte prospettici, degli studi di randomizzazione mendeliana e dei trial randomizzati di intervento qui discussi, supportati da evidenze sui meccanismi biologici che verranno presentati nel secondo Consensus Statement sulla causalità delle LDL, stabiliscono che le LDL non sono puramente un biomarker di rischio aumentato ma un fattore causale nella fisiopatologia della ASCVD. Le implicazioni fondamentali di questa conclusione sono presentate nel *box 1*.

Traduzione a cura della dott.ssa Manuela Casula, Università degli Studi di Milano.

BOX 1

Lipoproteina a bassa densità (LDL) come fattore causale per la malattia cardiovascolare aterosclerotica: implicazioni fondamentali

- L'impatto cumulativo delle LDL a livello arterioso è un determinante centrale per lo sviluppo e la progressione della malattia aterosclerotica cardiovascolare.
- Più basso è il livello di colesterolo LDL (c-LDL) ottenuto con agenti hanno come principale target i recettori LDL, maggiore è il vantaggio clinico maturato.
- Sia la riduzione proporzionale (relativa) sia la riduzione assoluta del rischio sono correlate all'entità della riduzione del c-LDL.
- L'abbassamento precoce del c-LDL nei soggetti ad alto rischio cardiovascolare sembra opportuno, soprattutto nei soggetti con ipercolesterolemia familiare.

RIASSUNTO

Obiettivi. Valutare le evidenze cliniche e genetiche a supporto del rapporto causale tra le lipoproteine a bassa densità (LDL) e le malattie cardiovascolari aterosclerotiche (ASCVD).

Metodi e risultati. Si è voluto stabilire se l'associazione tra LDL e ASCVD soddisfa i criteri di causalità, valutando la totalità delle evidenze da studi genetici, studi di coorte prospettici epidemiologici, studi di randomizzazione mendeliana e trial randomizzati di terapie che riducono le LDL. Negli studi clinici, l'impatto delle LDL plasmatiche è di solito stimato mediante la determinazione del livello di colesterolo LDL (c-LDL). Le mutazioni genetiche rare che causano ridotta funzionalità del recettore LDL portano ad un rilevante aumento del c-LDL e un aumento dose-dipendente del rischio di ASCVD, mentre varianti rare che portano a c-LDL più basso sono associate ad un rischio minore di ASCVD. Metanalisi separate di oltre 200 studi di coorte prospettici, studi di randomizzazione mendeliana e studi randomizzati che comprendono più di 2 milioni di partecipanti con oltre 20 milioni di anni-persona di follow-up e oltre 150.000 eventi cardiovascolari dimostrano un'associazione log-lineare tra la misura assoluta dell'esposizione vascolare a c-LDL e il rischio di ASCVD; questo effetto aumenta al crescere della durata dell'esposizione a c-LDL. Sia gli studi genetici randomizzati che i trial randomizzati di intervento dimostrano in modo coerente che qualsiasi meccanismo di abbassamento della concentrazione plasmatica delle LDL riduce il rischio di eventi da ASCVD in modo proporzionale alla riduzione assoluta di c-LDL e alla durata cumulativa dell'esposizione a bassi livelli di c-LDL, a supporto del fatto che la riduzione ottenuta in c-LDL sia concorde con la riduzione del numero di particelle di LDL e che non vi siano effetti off-target.

Conclusioni. Le evidenze, coerenti da molti e diversi tipi di studi clinici e genetici, dimostrano inequivocabilmente che le LDL causano ASCVD.

Parole chiave: *Aterosclerosi, Malattia cardiovascolare, Causalità, Trial clinici, Ezetimibe, Lipoproteine a bassa densità, Randomizzazione mendeliana, PCSK9, Raccomandazioni, Statine.*

Bibliografia

1. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004; 364: 937-52.
2. Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell*. 2015; 161: 161-72.
3. DuBroff R. Cholesterol paradox: a correlate does not a surrogate make. *Evid Based Med*. 2017; 22: 15-19.
4. Ravnskov U, Diamond DM, Hama R, et al. Lack of an association or an inverse association between low-density-lipoprotein cholesterol and mortality in the elderly: a systematic review. *BMJ Open*. 2016; 6: e010401.
5. Camejo G, Lopez A, Vegas H, Paoli H. The participation of aortic proteins in the formation of complexes between low density lipoproteins and intima-media extracts. *Atherosclerosis*. 1975; 21: 77-91.
6. Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature*. 2002; 417: 750-4.
7. Schwenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. II. Selective retention of LDL vs selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis*. 1989; 9: 908-18.
8. Frank JS, Fogelman AM. Ultrastructure of the intima in WHHL and cholesterol-fed rabbit aortas prepared by ultra-rapid freezing and freeze-etching. *J Lipid Res*. 1989; 30: 967-78.
9. Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. *Circulation*. 2007; 116: 1832-44.
10. Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res*. 1988; 29: 1491-500.
11. Descamps OS, Bruniaux M, et al. Lipoprotein concentrations in newborns are associated with allelic variations in their mothers. *Atherosclerosis*. 2004; 172: 287-98.
12. Chapman MJ. Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative aspects. *J Lipid Res*. 1980; 21: 789-853.
13. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in

- the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013; 34: 3478-90.
14. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2014; 35: 2146-57.
 15. Khera AV, Won HH, Peloso GM, et al. Diagnostic yield of sequencing familial hypercholesterolemia genes in patients with severe hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67: 2578-89.
 16. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur Heart J*. 2016; 37: 1384-94.
 17. Raal FJ, Pilcher GJ, Waisberg R, et al. Low-density lipoprotein cholesterol bulk is the pivotal determinant of atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 1999; 83: 1330-3.
 18. Schmidt HH, Hill S, Makariou EV, et al. Relationship of cholesterol-year score to severity of calcific atherosclerosis and tissue deposition in homozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 1996; 77: 575-80.
 19. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J*. 2015; 36: 2425-37.
 20. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006; 354: 1264-72.
 21. Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA*. 2012; 307: 2499-506.
 22. Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G, Clarke R, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet*. 2007; 370: 1829-39.
 23. Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JA, et al. mendeliana randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med*. 2008; 27: 1133-63.
 24. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466: 707-13.
 25. Global Lipids Genetics Consortium. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet*. 2013; 45: 1274-83.
 26. Ference BA. mendeliana randomization studies: using naturally randomized genetic data to fill evidence gaps. *Curr Opin Lipidol*. 2015; 26: 566-71.
 27. CARDIoGRAMplusC4D Consortium. A comprehensive 1000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease. *Nat Genet*. 2015; 47: 1121-30.
 28. Ference BA, Yoo W, Alesh I, et al. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a mendeliana randomization analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 60: 2631-39.
 29. Linsel-Nitschke P, Gotz A, Erdmann J, et al. Lifelong reduction of c-LDL cholesterol related to a common variant in the LDL receptor gene decreases the risk of coronary artery disease: a mendeliana Randomisation study. *PLoS One*. 2008; 3: e2986.
 30. Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, et al. mendeliana randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2015; 36: 539-50.
 31. Ference BA, Majeed F, Penumetcha R, et al. Effect of naturally random allocation to lower low-density lipoprotein cholesterol on the risk of coronary heart disease mediated by polymorphisms in NPC1L1, HMGCR, or both: a 2 x 2 factorial mendeliana randomization study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 1552-261.
 32. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, 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: 1670-81.
 33. Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet* 2016; 388: 2532-61.
 34. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, et al. Association of LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B levels with risk of cardiovascular events among patients treated with statins: a meta-analysis. *JAMA*. 2012; 307: 1302-9.
 35. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. ASTEROID Investigators. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006; 295: 1556-65.

36. 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: 2078-87.
37. Garcia-Calvo M, Lisnock J, Bull HG, et al. The target of ezetimibe is Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102: 8132-7.
38. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. IMPROVE-IT Investigators. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2015; 372: 2387-97.
39. Baigent C, Landray MJ, Reith C, et al. SHARP Investigators. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2011; 377: 2181-92.
40. Lauridsen BK, Stender S, Frikke-Schmidt R, et al. Genetic variation in the cholesterol transporter NPC1L1, ischemic vascular disease and gallstone disease. *Eur Heart J.* 2015; 36: 1601-8.
41. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech A, et al. Rationale and design of the Further cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in subjects with Elevated Risk (FOURIER) Trial. *Am Heart J* 2016; 173: 94-101.
42. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017.
43. 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: 2144-53.
44. Nicholls SJ, Puri R, Anderson T, et al. Effect of evolocumab on progression of coronary disease in statin-treated patients. The GLAGOV randomized clinical trial. *JAMA.* 2016; 316: 2373-84.
45. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics coronary primary prevention trial results: reduction in the incidence of coronary artery disease. *JAMA.* 1984; 251: 351-64.
46. Buchwald H, Varco RL, Matts JP, et al., The POSCH Group. Effect of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patients with hypercholesterolemia. Report of the Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias (POSCH). *N Engl J Med.* 1990; 323: 946-55.
47. Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association between lowering c-LDL and cardiovascular risk reduction among different therapeutic interventions: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2016; 316: 1289-97.
48. Lincoff AM for the ACCELERATE Trial Investigators. Lipid levels and cardiovascular outcome with cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibition by evacetrapib in the ACCELERATE Trial. Late Breaking Clinical Trials, ESC Congress 2016, Rome. <http://congress365.escardio.org/Search-Results?vgnextkeyword=evacetrapib&Years=C365YEAR2016#.WCm9LoXXJjo> (8 February 2017).
49. Hill AB. The environment and disease. Association or causation? *Proc R Soc Med.* 1965; 58: 295-300.
50. Ford I, Murray H, McCowan C, Packard CJ. Long-term safety and efficacy of lowering low-density lipoprotein cholesterol with statin therapy: 20-year follow-up of West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation.* 2016; 133: 1073-80.
51. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al., on behalf of Authors/Task Force Members. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J.* 2016; 37: 2999-3058.
52. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation.* 2014; 129 (25 Suppl. 2): S1-S45.
53. Mega JL, Stitzel NO, Smith JG, et al. Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials. *Lancet.* 2015; 385: 2264-71.