

“ERV1/ChemR23 Signaling Protects from Atherosclerosis by Modifying oxLDL Uptake and Phagocytosis in Macrophages”

Andrés Laguna Fernández, PhD

Valencia, 12 de junio de 2018

1

Guión de la presentación

- **Introducción**
- **Hipótesis y Objetivos**
- **Presentación del estudio premiado por la RAMCV 2017**

The screenshot shows the Circulation journal website. At the top right, there are buttons for 'MY ALERTS', 'SIGN IN', 'JOIN', and 'SIGN OUT'. Below these are social media icons for Facebook and Twitter. The main navigation bar includes 'HOME', 'ABOUT THIS JOURNAL', 'ALL ISSUES', 'SUBJECTS', 'BROWSE FEATURES', 'RESOURCES', and 'AHA JOURNALS'. The article title is 'ERV1/ChemR23 Signaling Protects from Atherosclerosis by Modifying oxLDL Uptake and Phagocytosis in Macrophages'. The authors listed are Andres Laguna-Fernandez, Antonio Checa, Miguel Carracedo, Gonzalo Artiach, Marcelo H. Petri, Roland Baumgartner, Maria J. Forteza, Xintong Jiang, Teodora Andonova, Mary E. Walker, Jesmond Dalli, Hildur Arnardottir, Anton Gisterà, Silke Thul, Craig E. Wheelock, Gabrielle Paulsson-Berne, Daniel F. J. Ketelhuth, Göran K. Hansson, and Magnus Bäck. There is a 'Download PDF' button and a DOI link: https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.032801. The text also states 'Circulation. 2018;CIRCULATIONAHA.117.032801' and 'Originally published May 8, 2018'.

2

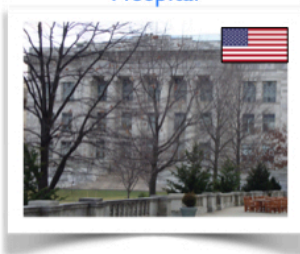
Trayectoria Profesional



Universidad de Valencia
INCLIVA
Valencia



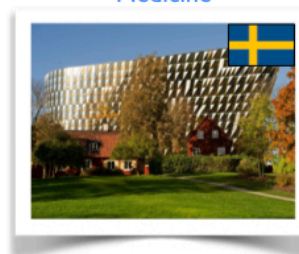
Harvard Medical School
Brigham and Women's
Hospital



Yamagata University
Yamagata University
Hospital



Karolinska Institutet
Center for Molecular
Medicine



3

Siglos XIX y XX

Perspectiva histórica: Aterosclerosis e Inflamación

En 1815, **Joseph Hodgson** dijo: “la **inflamación** [de las arterias] es desencadenada por un daño”, y citó daño mecánico y aumento de la presión como posibles causas desencadenantes.

En 1829, **Jean Lobstein** introdujo el término “**arteriosclerosis**” en su inacabado tratado medico: *Traité d'Anatomie Pathologique*. Lobstein describió la **inflamación en la capa interna de la aorta** y atribuyó este descubrimiento a **Arateo de Capadocia**, un medico griego del **siglo I**.

Mitad del siglo XIX: dos escuelas rivales de patología lideradas por **Rudolf Virchow** y por **Carl von Rokitansky**, describieron **procesos inflamatorios** en las paredes de los vasos con aterosclerosis. Virchow abogaba por un papel primario; mientras que von Rokitansky, los consideraba secundarios.

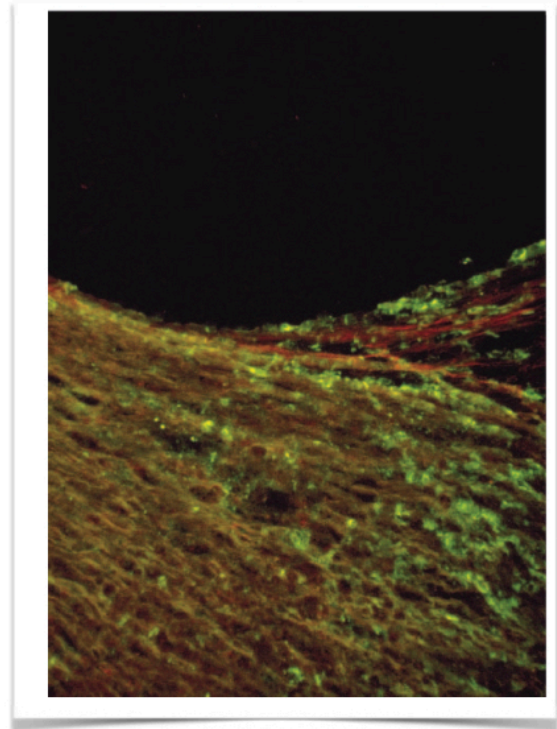
Principios del siglo XX: los trabajos de **Ignatowsky**, **Anitschkow** y **Chalato** sobre el efecto del **colesterol** en el desarrollo de la aterosclerosis, dieron relevancia a la **teoría lipídica**.

En 1957, la publicación de los resultados del **Estudio Framingham**, en los que se demostraba la correlación entre niveles circulantes de colesterol y manifestaciones clínicas de enfermedad cardiovascular en poblaciones humanas, supusieron un fuerte respaldo a la teoría lipídica.

Primer artículo: Respuesta celular inmune en aterosclerosis

“Una abundante expresión de MHC clase II en la placa nos sugirió que una reacción inmune-inflamatoria podría ser parte del proceso aterosclerótico”.

Lena Jonasson & Göran Hansson



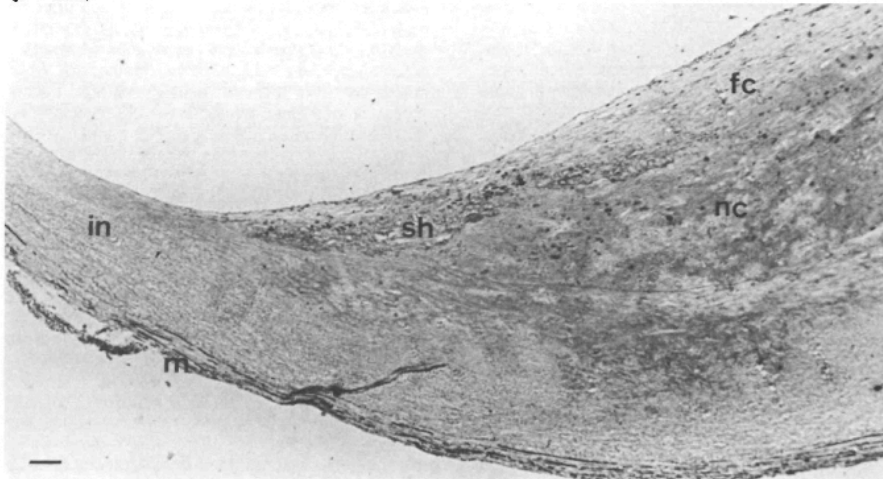
Fuente: Jonasson L, J Clin Invest. 1985;76:125–131.

Caracterización de la placa aterosclerótica: Detección células inmunes

Table 2. Cellular Composition of the Plaque

Cell type	Intima	Shoulder	Fibrous cap	Necrotic core
Macrophages	8.6 ± 1.5 ^{a,b,c}	18.2 ± 3.4 ^{a,c}	23.9 ± 3.7 ^{b,e}	60.3 ± 5.1 ^{c,d,e}
T cells	7.7 ± 2.5 ^{f,g}	21.6 ± 3.2 ^{f,h}	17.5 ± 2.4 ^{g,i}	9.2 ± 2.3 ^{h,i}
NK/K cells	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.3	0.5 ± 0.3	0.1 ± 0.1
B cells	0.5 ± 0.4	0.6 ± 0.3	0.9 ± 0.4	0.1 ± 0.1
Granulocytes	0	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0
Desmin ⁺	5.8 ± 0.7 ^{k,l}	20.7 ± 2.5 ^{j,m,n}	61.2 ± 2.1 ^{k,m,o}	28.5 ± 2.4 ^{l,n,o}

Values are % of total number of cells, mean ± SE. Values having the same superscript are significantly different ($p < 0.05$).



Fuente: Jonasson L, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1986;6:131-138

ATHEROSCLEROSIS — UNA ENFERMEDAD INFLAMATORIA

Mechanisms of Disease

FRANKLIN H. EPSTEIN, M.D., *Editor*

ATHEROSCLEROSIS — AN INFLAMMATORY DISEASE

RUSSELL ROSS, PH.D.



Russell Ross

FACTORS THAT INDUCE AND PROMOTE INFLAMMATION OR ATHEROGENESIS

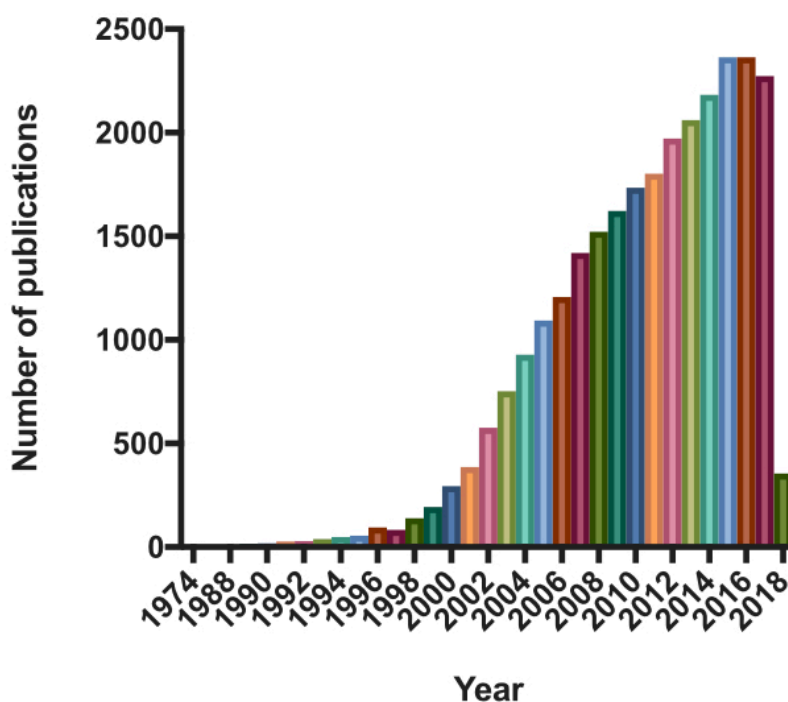
Numerous pathophysiologic observations in humans and animals led to the formulation of the response-to-injury hypothesis of atherosclerosis, which initially proposed that endothelial denudation was the first step in atherosclerosis.⁶ The most recent version of this hypothesis emphasizes endothelial dysfunction rather than denudation. Whichever process is at work, each characteristic lesion of atherosclerosis represents a different stage in a chronic inflammatory process in the artery; if unabated and excessive, this process will result in an advanced, complicated lesion. Possible causes of endothelial dysfunction

Fuente: Ross R, N Engl J Med. 1999 Jan 14;340(2):115-26.

7

Artículos recogidos en PubMed

Términos de búsqueda: “Atherosclerosis and Inflammation”



8

Terapias antiinflamatorias contra la aterosclerosis

Demostración de la hipótesis inflamatoria en aterotrombosis

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

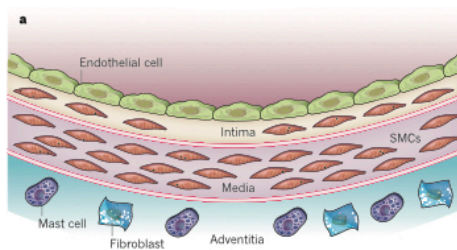
Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease

P.M. Ridker, B.M. Everett, T. Thuren, J.G. MacFadyen, W.H. Chang, C. Ballantyne, F. Fonseca, J. Nicolau, W. Koenig, S.D. Anker, J.J.P. Kastelein, J.H. Cornel, P. Pais, D. Pella, J. Genest, R. Cifkova, A. Lorenzatti, T. Forster, Z. Kopalava, L. Vida-Simiti, M. Flather, H. Shimokawa, H. Ogawa, M. Dellborg, P.R.F. Rossi, R.P.T. Troquay, P. Libby, and R.J. Glynn, for the CANTOS Trial Group*

Fuente: Ridker PM, for the CANTOS Trial Group; NEJM 10.1056/NEJMoa1707914 (2017)

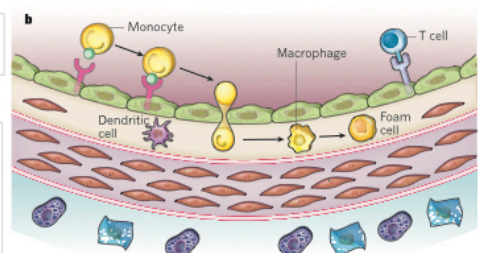
9

Fisiopatología de la aterosclerosis



Inicia con la retención y acumulación de lipoproteínas ricas en colesterol: LDL & VLDL.

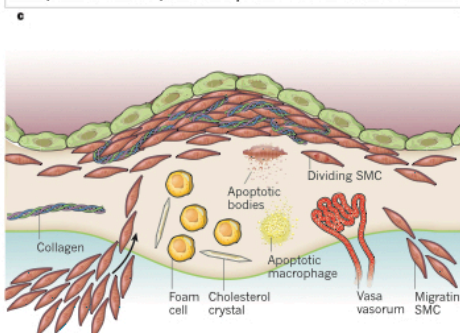
La modificación (por ej. oxidación) de esas lipoproteínas desencadena la **activación** de células estructurales, que a su vez reclutan células inmunes, incluyendo **macrófagos** que **captan** las lipoproteínas acumuladas.



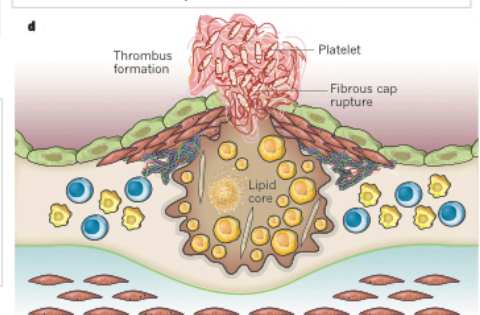
Células de músculo liso migran desde la media a la íntima, depositan matriz extracelular y contribuyen a la formación del fibrous cap alrededor de la lesión

Cuando la cantidad de colesterol libre dentro del macrófago excede su capacidad de excreción, se acumula en forma de ésteres de colesterol con apariencia de gotas lipídicas (célula espumosa).

La ruptura o erosión de una placa inestable produce eventos trombóticos que son responsables de las manifestaciones clínicas.



En lesiones avanzadas, la células espumosas mueren, contribuyendo con su contenido al establecimiento de un núcleo lipídico y de desechos celulares (necrotic core). La incapacidad de los macrófagos para **fagocitar** esos residuos contribuye a la **expansión** de la lesión.

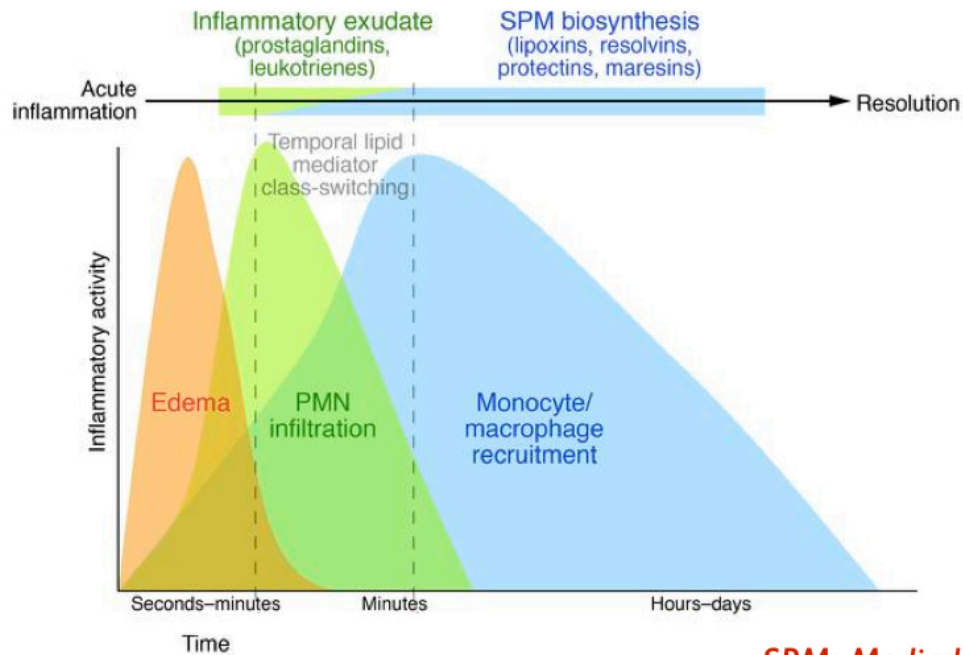


Fuente: Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Nature. 2011 May 19;473(7347):317-25.

10

Diferentes fases del proceso inflamatorio

Mediadores lipídicos controlan el proceso inflamatorio



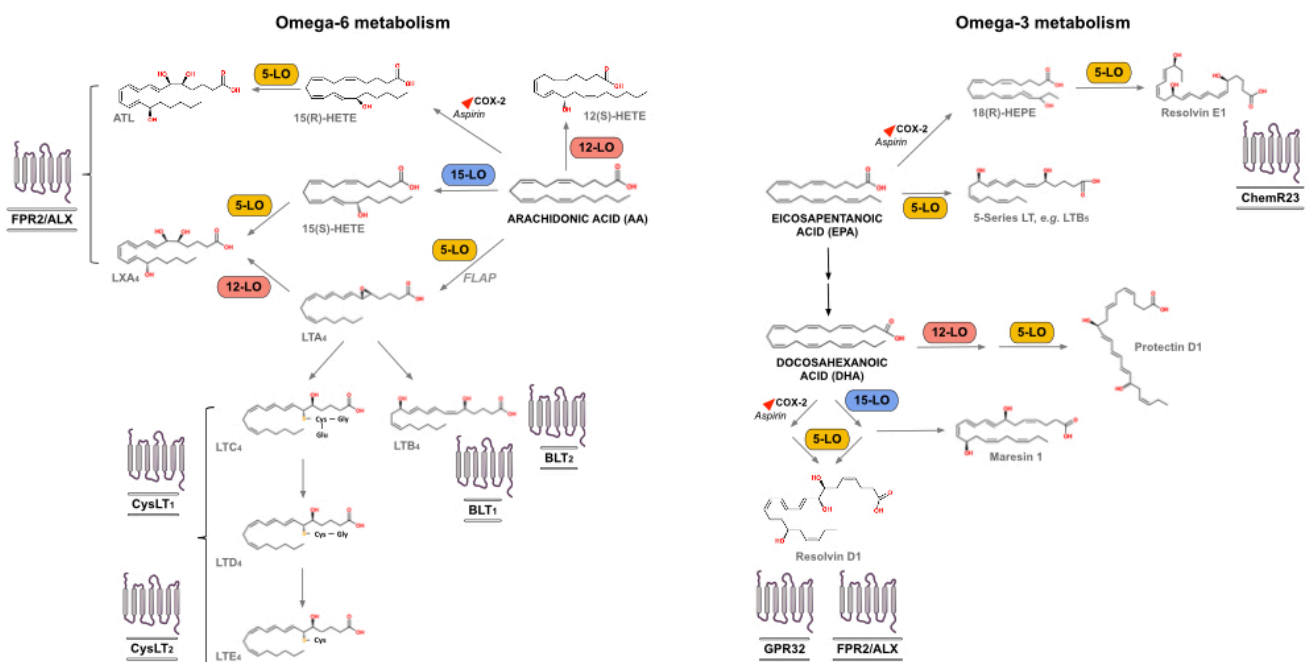
SPM: Mediadores lipídicos pro-resolutivos

Fuente: Serhan CN and Levy BD. JCI May 14, 2018 (in press)

11

Ácidos grasos poliinsaturados: Nuevas vías metabólicas

Mediadores lipídicos proresolutorios y sus receptores



Fuente: Laguna-Fernandez *et al*, Progress in Inflammation Research; Lipoxygenases in Inflammation. Springer 2016.

12

Hipótesis

Además de una señalización proinflamatoria aumentada, un fallo en la resolución de la inflamación contribuye a la progresión de la enfermedad aterosclerótica.

Objetivo

Identificar vías de señalización asociadas con la suplementación nutricional con EPA en el progreso de la aterosclerosis y en la formación de mediadores lipídicos en modelos experimentales.

13

Metodología empleada



Estudios con animales

- Apoe^{-/-} alimentados con 3 dietas
- Apoe^{-/-} x Erv1/Chemr23^{+/+} vs. Apoe^{-/-} x Erv1/Chemr23^{-/-}
- Transplante de médula ósea Erv1/Chemr23^{+/+} o Erv1/Chemr23^{-/-} en ratones Ldlr^{-/-}



Estudios *in vitro* con macrófagos peritoneales

- Captación de oxLDL
- Fagocitosis

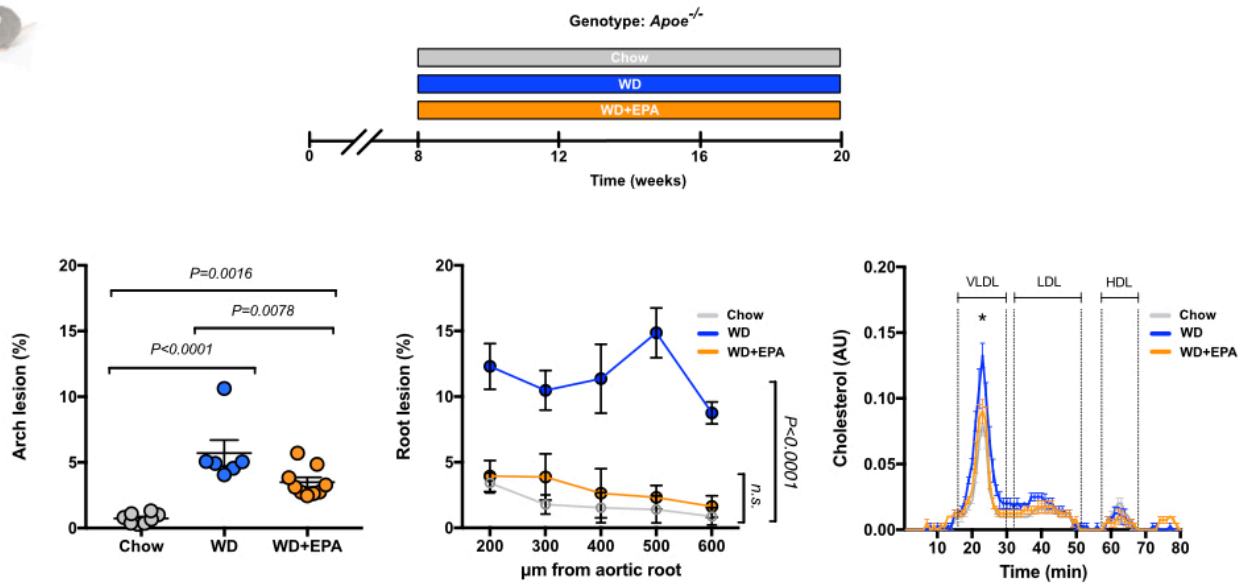


Biobanco de endarterectomías carotídeas del Karolinska (BiKE)

- Tinciones histoquímicas: IHC e IF
- Datos clínicos, asociaciones de expresión genética
- Estratificación de pacientes

14

Identificación de vías de señalización



La suplementación con EPA atenuó el crecimiento de la lesión inducido por dieta rica en grasas.

No efecto de EPA en colesterol total; sí redujo los niveles de VLDL-colesterol

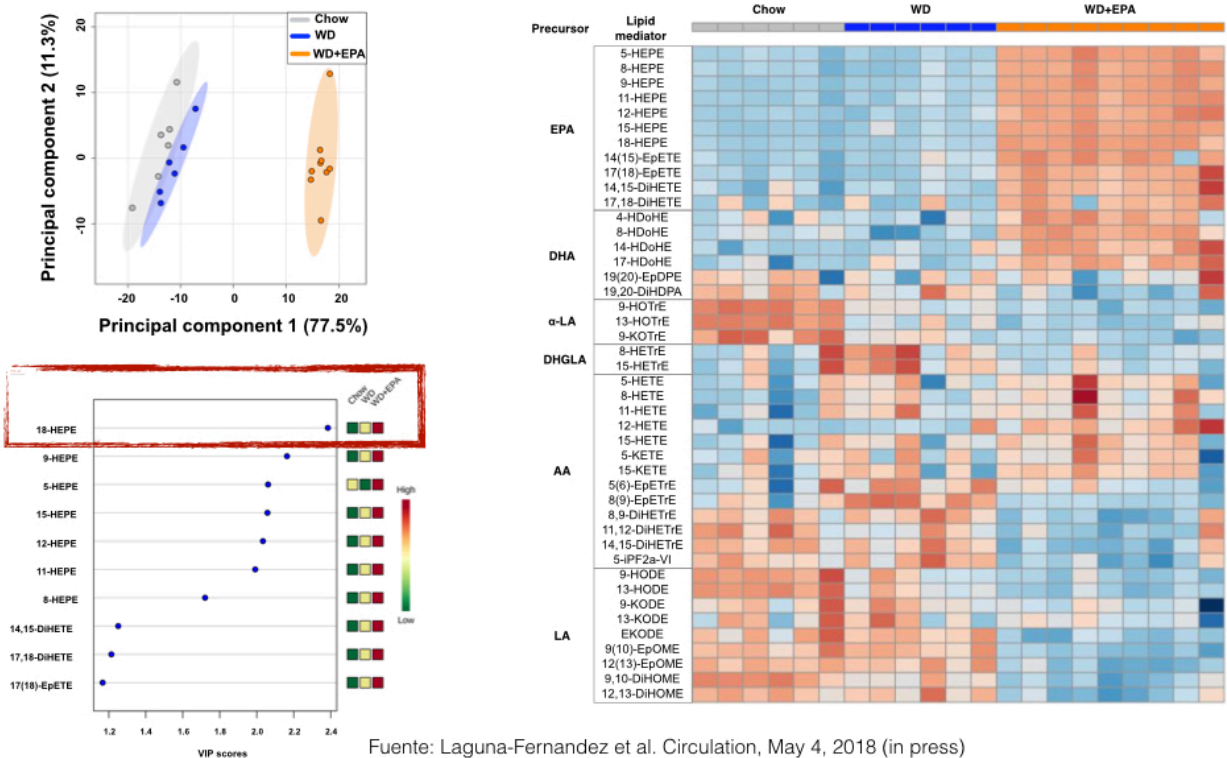
Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

15

Identificación de vías de señalización



Lipidómica en plasma: Identificación 18-HEPE

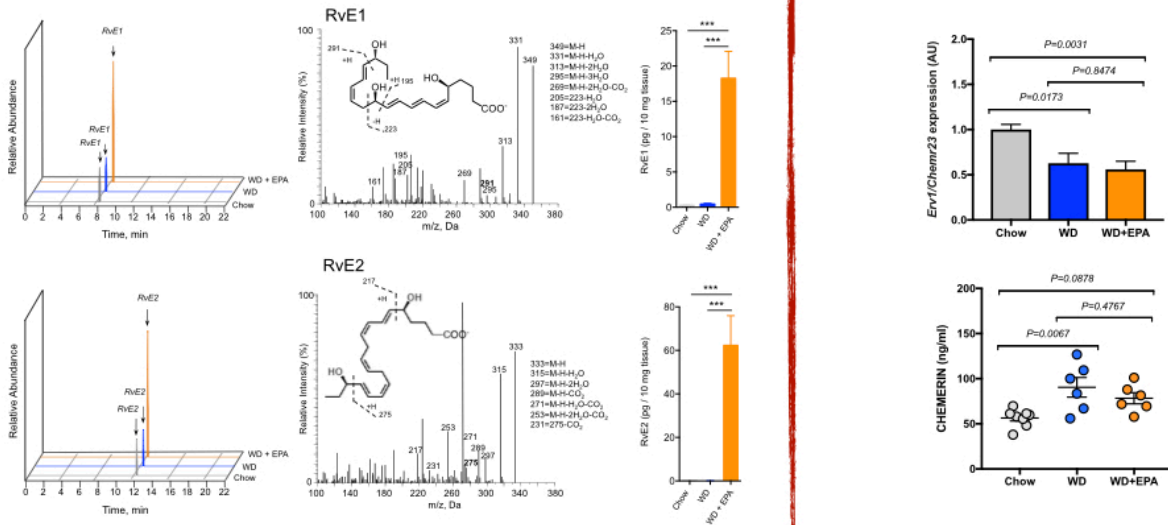


Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

16

Identificación de vía de señalización Erv1/Chemr23

Análisis en diversos tejidos: Detección de ligandos y receptor



La suplementación con EPA aumentó la concentración de RvE1 y RvE2 en bazo

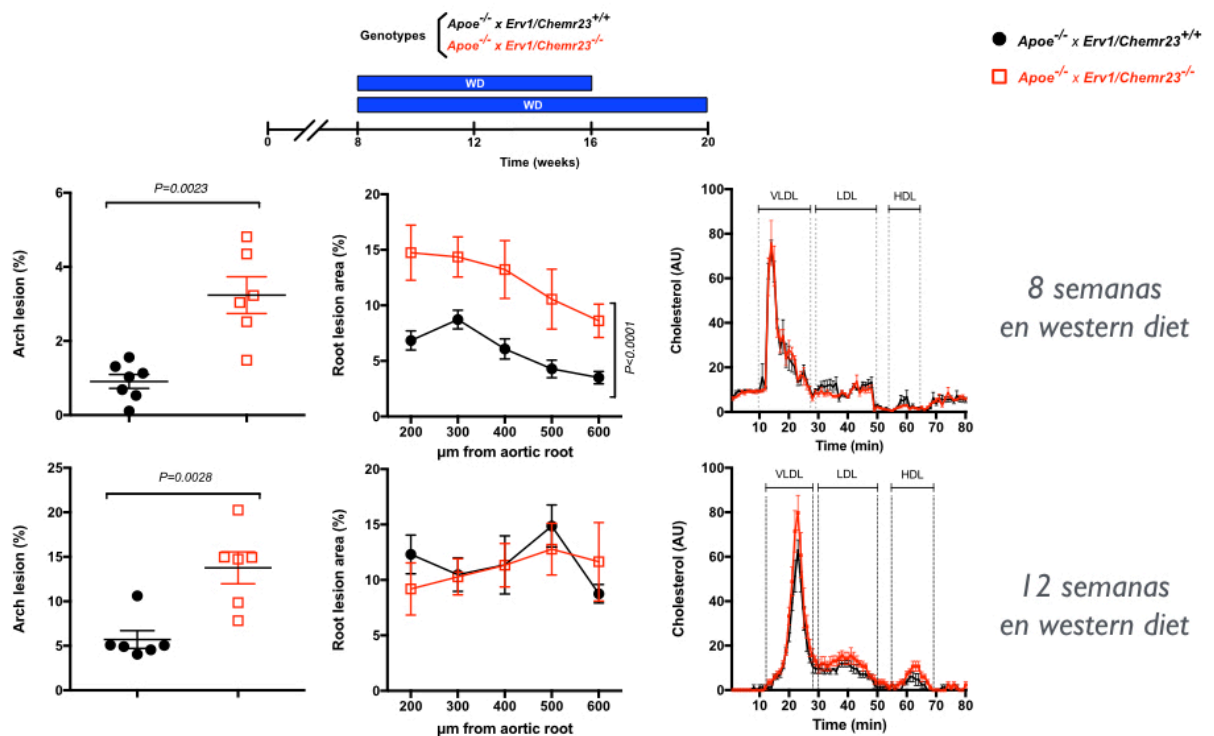
Erv1/Chemr23 se expresa en aortas. Chemerina está presente en plasma.

Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

17

Deleción genética de Erv1/Chemr23 en ratones Apoe-/-

La deleción aumenta el tamaño de placa sin modificar perfil lipídico

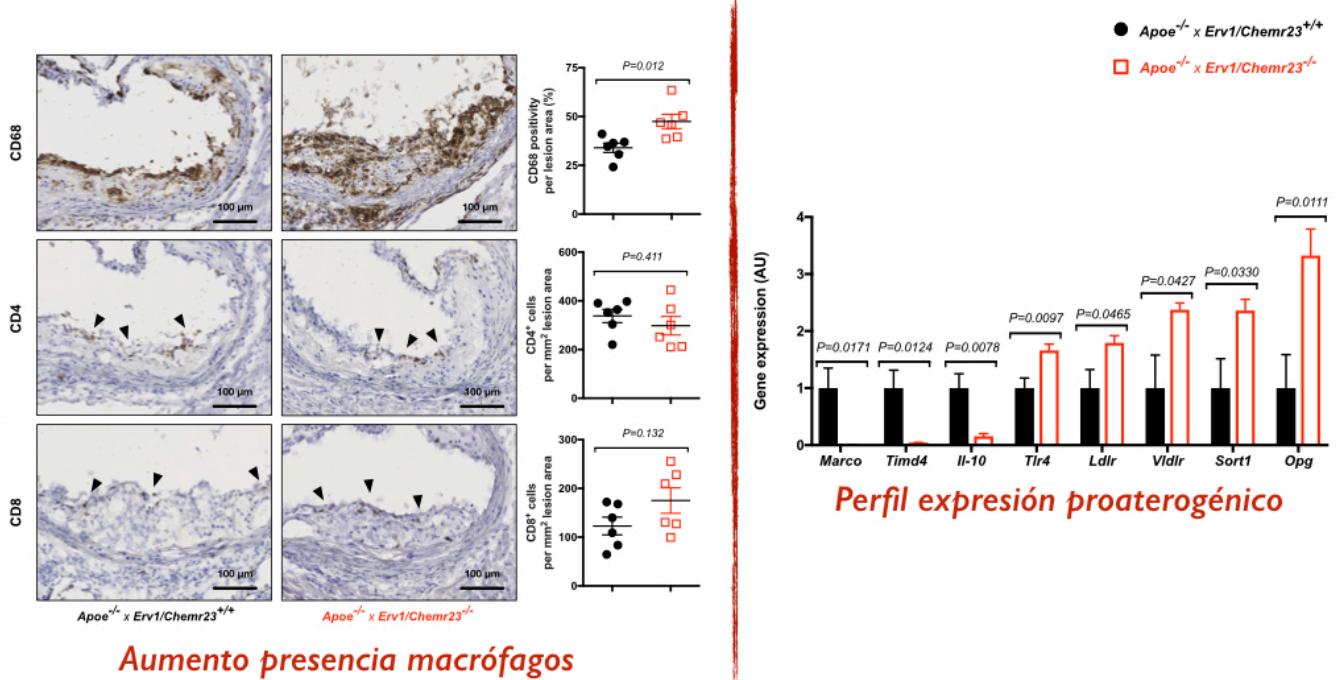


Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

18

Deleción genética de *Erv1/Chemr23* en ratones *Apoe*^{-/-}

Cambios en composición de placa y expresión génica (12 semanas)

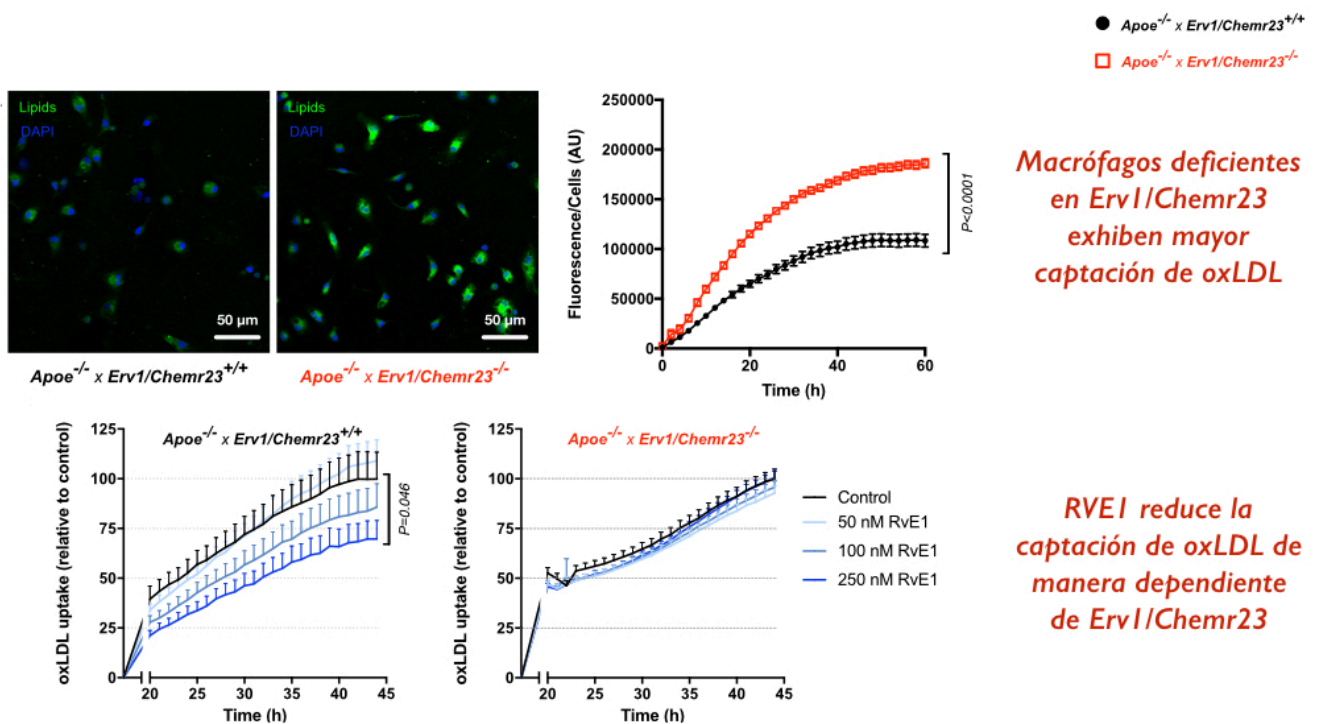


Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

19

Captación oxLDL - Macrófagos Peritoneales

Captación de oxLDL: Efecto del genotipo y del ligando

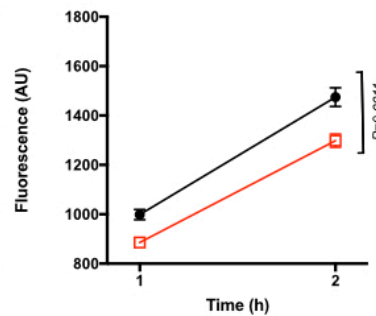
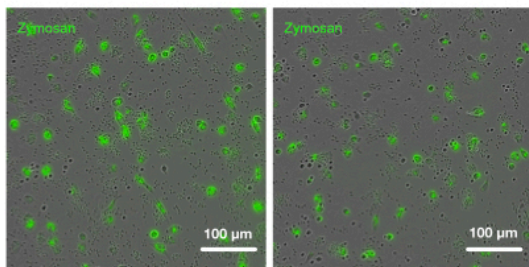


Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

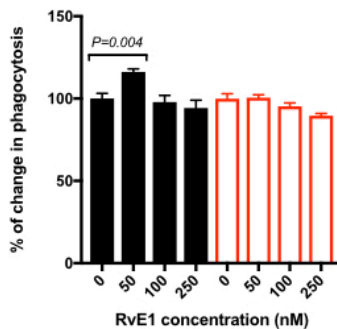
20

Fagocitosis - Macrófagos Peritoneales

Fagocitosis Zymosan-pHrodo: Efecto del genotipo y del ligando



Macrófagos deficientes en Erv1/Chemr23 exhiben menor capacidad fagocítica



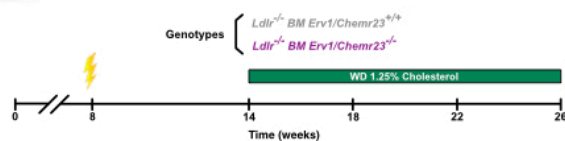
RVE1 aumenta la capacidad fagocítica de manera dependiente de Erv1/Chemr23

Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

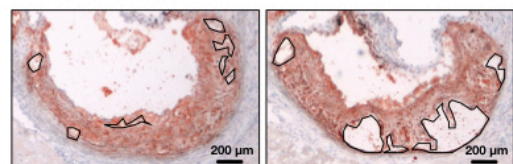
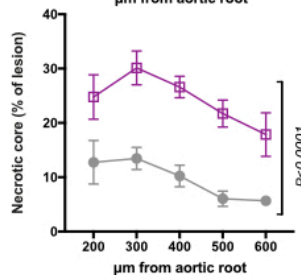
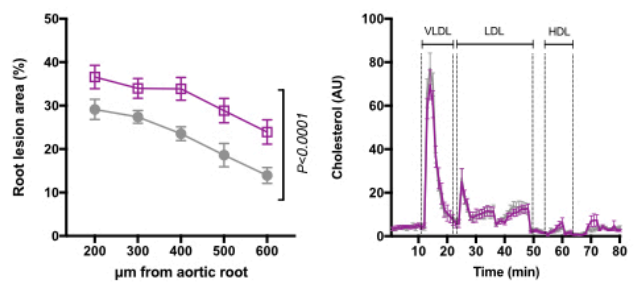
21

Estudio de la ausencia del receptor en sistema inmune

Generación de quimeras mediante transplante de médula ósea



Animales transplados con médula ósea proveniente de ratones deficientes en Erv1/Chemr23 exhibieron mayor tamaño de placa, con núcleos neuróticos significativamente agrandados.



Ldlr^{-/-} BM Erv1/Chemr23^{+/+}

Ldlr^{-/-} BM Erv1/Chemr23^{-/-}

Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

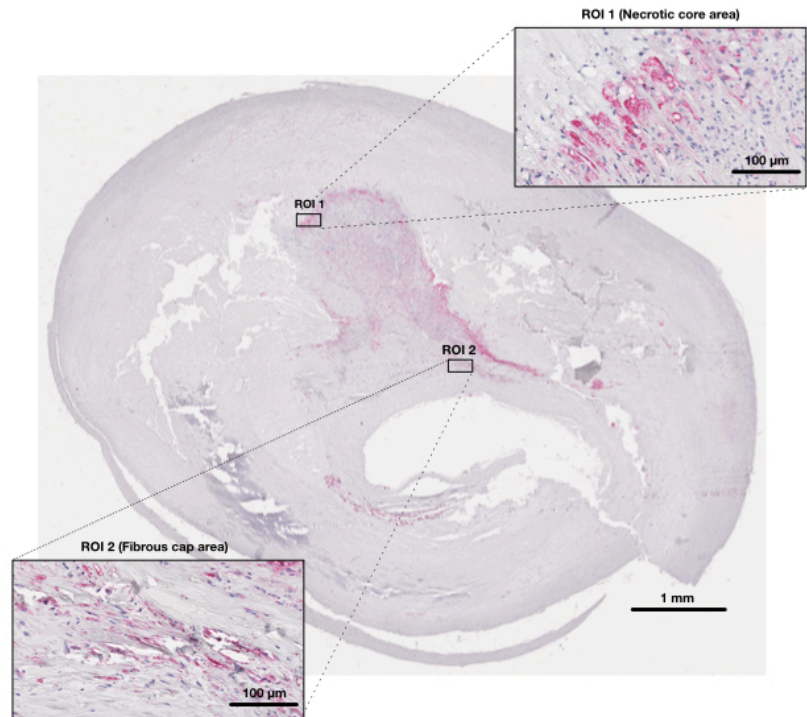
22

Implicaciones traslacionales de los descubrimientos



Detección de *Erv1*/*Chemr23* en placas ateroscleróticas carotídeas

*Análisis inmunohistoquímico reveló que la expresión de *Erv1*/*Chemr23* se localiza preferencialmente en el núcleo necrótico y en la capa fibrosa*



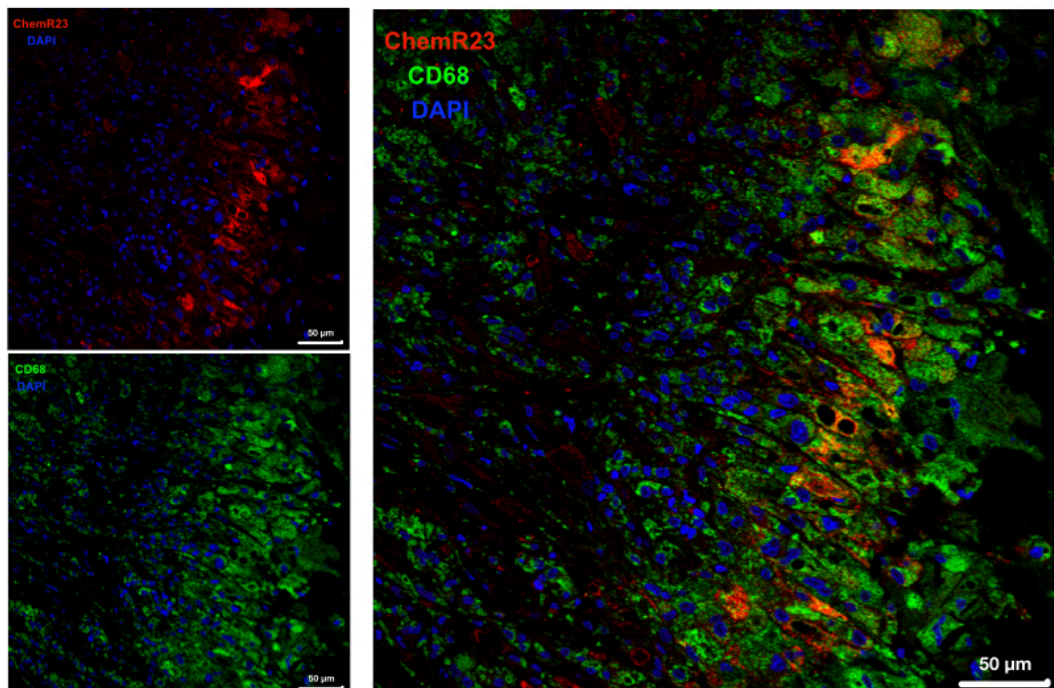
Fuente: Laguna-Fernandez et al. *Circulation*, May 4, 2018 (in press)

23

Implicaciones traslacionales de los descubrimientos



Asociación de *Erv1*/*Chemr23* con marcadores celulares



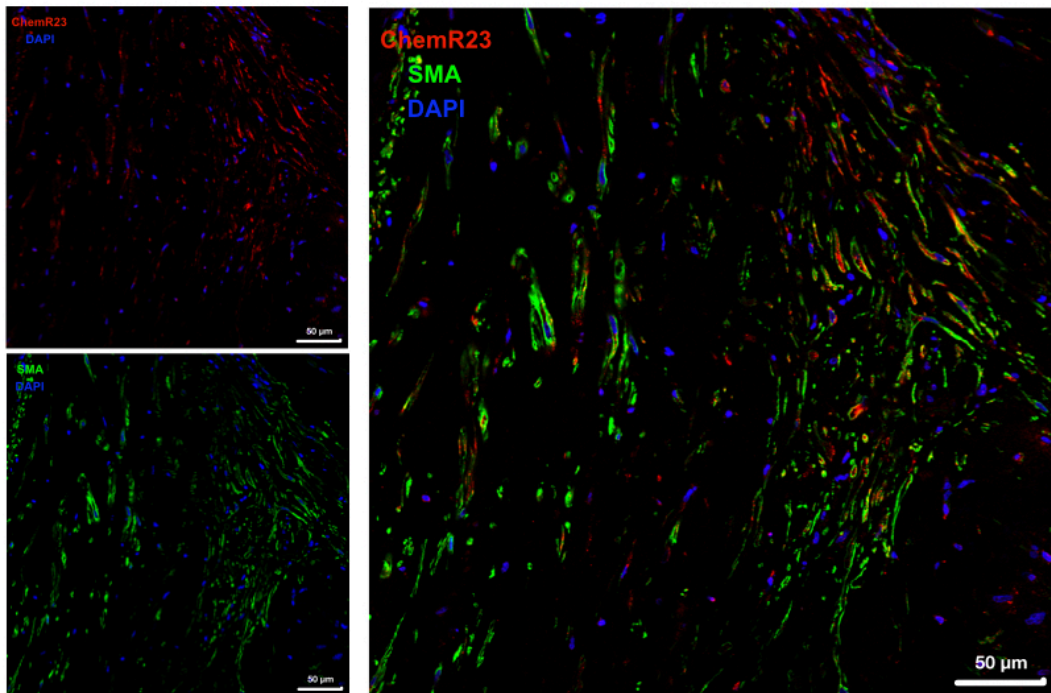
**Erv1*/*Chemr23* se expresa preferencialmente en macrófagos *CD68*⁺ del núcleo necrótico*

Fuente: Laguna-Fernandez et al. *Circulation*, May 4, 2018 (in press)

24

Implicaciones traslacionales de los descubrimientos

Asociación de *Erv1/Chemr23* con marcadores celulares



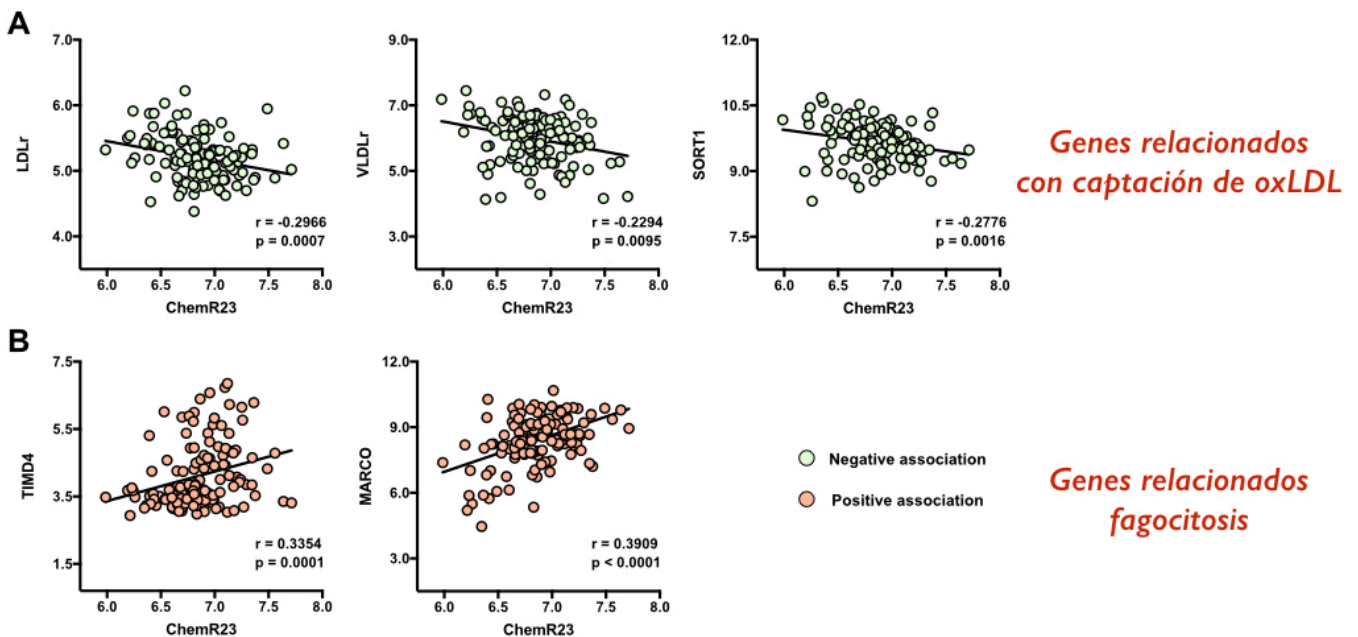
Erv1/Chemr23 se expresa en células musculares lisas de la capa fibrosa

Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

25

Implicaciones traslacionales de los descubrimientos

Asociación de *Erv1/Chemr23* con genes relevantes para el desarrollo de la lesión



Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

26

Implicaciones traslacionales de los descubrimientos



Estratificación de los pacientes basado en uso de estatinas

Variable	No statins	Statins	P
Age (yr)	72 [67.75-79.5]	72 [65-78]	0.5014
Gender, n (%)			0.0991
Male	20 (16)	77 (61.6)	
Female	2 (1.6)	26 (20.8)	
Body mass index	27 [24.3-28.9]	25.45 [23.7-28.33]	0.2007
Weight (kg)	81 [75-88.5]	77.85 [70-86]	0.2557
Smoking, n (%)			0.3039
No + former	17 (15.0)	69 (61.1)	
Yes	3 (2.7)	24 (21.2)	
Diabetes, n (%)			0.1566
No or dont know	19 (15.2)	74 (59.2)	
Yes	3 (2.4)	29 (23.2)	
Cholesterol (mmol/L)	5.5 [3.98-6.05]	4.2 [3.65-4.95]	0.0266
LDL (mmol/L)	3.6 [2.1-4.3]	2.2 [1.9-2.8]	0.0145
HDL (mmol/L)	1.05 [0.9-1.33]	1.2 [0.9-1.3]	0.4022
Triglycerides (mmol/L)	1.55 [1.06-2.45]	1.5 [1-2.1]	0.6787
Fibrinogen (g/L)	3.3 [2.8-4]	3.6 [3.1-4.5]	0.3394
hsCRP (mg/L)	4.05 [1.53-9.33]	2.65 [1.28-6.2]	0.2882
Creatinine (μmol/L)	85 [69.75-98.25]	88 [76-105]	0.4968
Calculated GFR (ml/min)	81.57 [70.29-98.89]	75.52 [62.91-88.01]	0.1918
ChemR23 expression (AU)	6.69 [6.42-6.91]	6.86 [6.69-7.09]	0.0208

Los pacientes tratados con estatinas presentaban mayor expresión de *Ervi/Chemr23* en sus placas carotídeas

Fuente: Laguna-Fernandez et al. Circulation, May 4, 2018 (in press)

27

Conclusiones

- En este estudio identificamos al mediador lipídico I8-HEPE como el marcador en plasma más relevante tras suplementación de la dieta con EPA.
- Demostramos que el receptor ERVI/CHEMR23 y su ligando, RvEI, desempeñan un papel protector en el desarrollo de la aterosclerosis.
- La vía de señalización de ERVI/CHEMR23 podría representar una posibilidad terapéutica para reducir la enfermedad cardiovascular.

28

Agradecimientos



Familia y amigos

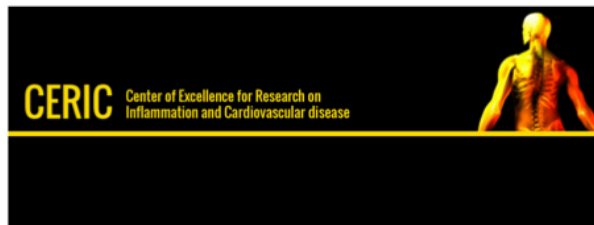
Magnus Bäck's team

Göran Hansson's team

Daniel K's team

Craig Wheelock's team

Funding



Stiftelsen Professor Nanna Svartz Fond

Fredrik och Ingrid Thuring's Stiftelse

Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor

Foundation for Geriatric Diseases at KI

KI Fond