

**LAVORO ORIGINALE**

# MARCATORI PREDITTIVI E PROGNOSTICI IN UNA COORTE DI DONNE MEDITERRANEA: REVISIONE DI RISULTATI DAL PROGETTO ATENA

## Predictive and prognostic markers in a cohort of Mediterranean women: review from the Atena project

**MARCO GENTILE<sup>1</sup>, MARINA SILVIA SCAMARDO<sup>2</sup>, GABRIELLA IANNUZZO<sup>1</sup>,  
CAMILLA PANICO<sup>1</sup>, GAETANO D'ONOFRIO<sup>3</sup>, ARCANGELO IANNUZZI<sup>4</sup>,  
MARIA TRIASSI<sup>2</sup>, PAOLO RUBBA<sup>1</sup>, SALVATORE PANICO<sup>1</sup>, FABIANA RUBBA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università di Napoli "Federico II";

<sup>2</sup>Dipartimento Sanità Pubblica, AOU Federico II;

<sup>3</sup>Direzione Sanitaria AOU Federico II;

<sup>4</sup>UO Medicina Interna, AORN "A. Cardarelli" di Napoli

### SUMMARY

The Progetto Atena was carried out on 5,062 women aged 30 to 69 years living in the area of Naples. The purpose of this study is to investigate the causes of those chronic diseases that have a major impact on the female population.

This systematic review and meta-analysis were carried out using published studies to estimate the prognostic or predictive potential of biomarkers, evaluated in studies nested into the Atena cohort. Studies were searched using PubMed, Cochrane library and Google scholar databases. Studies were selected for this review if it conducted in the Atena project Cohort and reported the study of biomarker. The study was assessed by two independent researcher against the following inclusion criteria:

- 1) Community based study done in the community or population;
- 2) Studies that reported biomarkers.

The extracted data were entered and analyzed using REVMAN software. The search strategy retrieved 15 potential articles and 6 studies were found eligible and included in the analysis of pooled estimates. In the analysis plasma lipids, creatinine, glucose, Lp (a), and intima media thickness (IMT), a marker of atherosclerosis, were evaluated. The pooled estimates were shown into Forrest plots. The pooled estimates verified the prognostic potential of biomarkers as predictors of IMT. Results are consistent with the multifactor profile of the CV risk and identify the prognostic value of IMT assessment and its impact in secondary prevention according to biochemical profiles.

**Key word:** *Women, progetto Atena, biomarkers, cardiovascular disease.*

## Introduzione

Il Progetto Atena è uno studio di coorte condotto su 5.062 donne di età compresa tra i 30 e i 69 anni, tutte viventi nell'area metropolitana di Napoli e reclutate nel periodo compreso fra il 1992 ed il 1996. Lo scopo principale dello studio di coorte è stato investigare le patologie croniche con maggiore impatto sulla salute della donna (tumori e patologie cardiovascolari). Sono state escluse alla visita iniziale le donne già portatrici delle patologie croniche oggetto della ricerca (1-3).

Come parte dello studio principale è stato effettuato, a circa dieci anni dalla visita basale, un richiamo per un sottogruppo di 228 donne già sottoposte alla visita di randomizzazione. Su queste partecipanti sono state effettuate anche delle valutazioni su numerosi marcatori biochimici in ambito cardiovascolare.

Negli anni successivi quindi diversi studi sono stati annidati nella coorte con un disegno di tipo caso controllo che hanno valutato il potere predittivo di diversi marcatori biochimici e talvolta anche il loro valore prognostico, soprattutto in relazione alla valutazione dell'ispessimento medio-intimale carotideo (IMT) o alle placche valutate con metodica ultrasonografica, come indicatori di aterosclerosi. In letteratura sono riportati diversi modelli prognostici, ma pochi sono sufficientemente validati e ancora meno trovano un loro spazio nella pratica clinica e negli algoritmi decisionali. Migliorare la conoscenza dei processi di malattia e pianificare meglio il confronto di trattamenti e l'informazione del paziente include una più compiuta conoscenza dei biomarcato-

ri misurabili e del loro valore predittivo. Lo scopo di questa review è valutare il possibile potere predittivo e prognostico di alcuni marcatori utilizzati in ambito di ricerca e quindi il loro potenziale impatto nei percorsi assistenziali, nel contesto delle donne italiane.

## Metodi

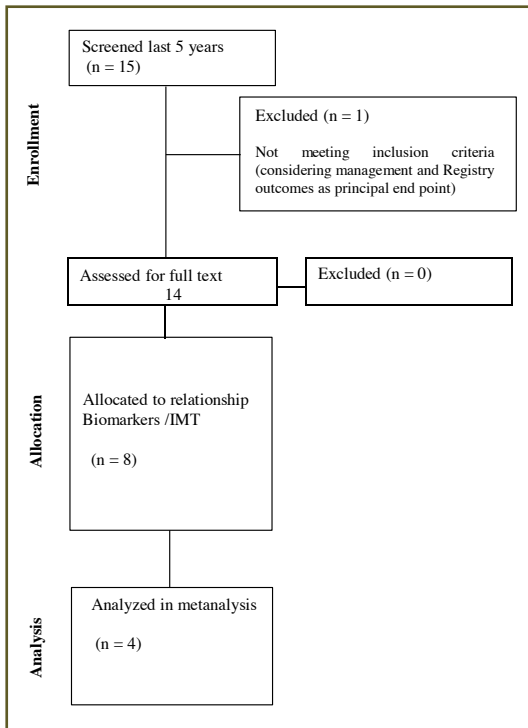
La review è stata condotta secondo uno schema validato in letteratura e strutturato in 5 fasi (4, 5): (1) formulazione della domanda della ricerca, (2) identificazione degli studi rilevanti, (3) selezione degli studi, (4) organizzazione dei dati, (5) sintesi dei risultati. La domanda a cui ci si propone di rispondere è stata identificata di seguito: "quali sono i marcatori biochimici predittivi o prognostici identificati negli studi condotti sulla Coorte di donne Mediterranee di Atena?". Il processo di revisione degli studi è stato effettuato, secondo il PRISMA Statement, in 4 fasi, come descritto in *figura 1*: identificazione, screening, eleggibilità ed inclusione. Come fonte per la ricerca delle evidenze sono stati utilizzati i database di MEDLINE ed EMBASE e la ricerca è stata effettuata utilizzando le keywords "Atena, Mediterranean woman, biomarkers". Gli studi sono stati limitati alla lingua inglese e a quelli condotti sugli umani. Lo screening dei titoli e degli abstract di tutti gli articoli inclusi nella review è stato condotto da due degli autori indipendentemente.

Sono stati adottati i seguenti criteri di esclusione: testo dell'articolo scritto in lingua diversa dall'italiano, inglese o francese, studio non originale, studio condotto al di fuori della coorte di Atena. Nessuna restrizione relativamente al disegno di studio adottato nei differenti articoli scientifici è stata applicata, i cri-

*Indirizzo per la corrispondenza*

Fabiana Rubba

E-mail: [fabiana.rubba@unina.it](mailto:fabiana.rubba@unina.it)



**Figura 1** - CONSORT diagram showing the analysis of Studies through each stage.

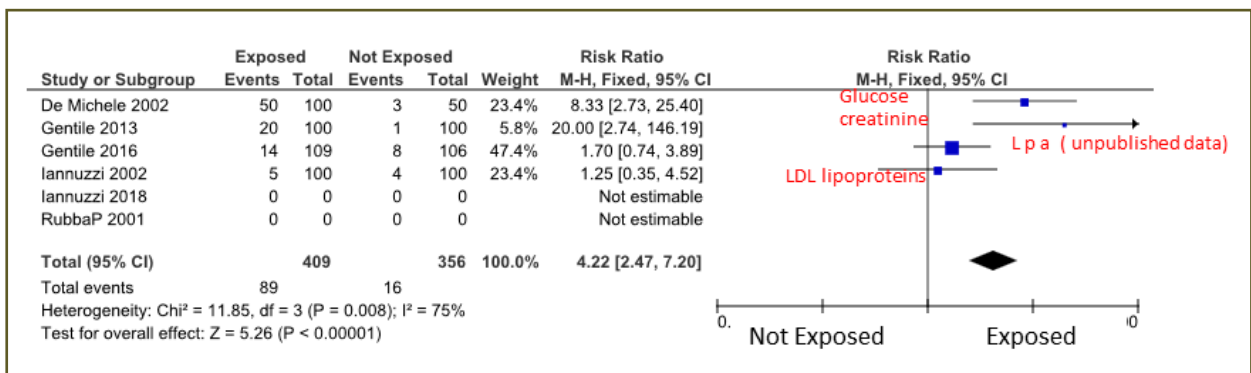
teri di inclusione minimali hanno previsto l'originalità dell'articolo. Sono state infine estratte le informazioni relative a: disegno dello studio, le unità di analisi in studio, il tipo di attività e i biomarcatori in studio, quali variabili predittive e le di-

pendenti studiate in relazione agli stessi. I dati estratti sono stati inseriti nel software Revman 5. Gli articoli inclusi sono stati descritti in tabella utilizzando un Forrest plot per le stime di confronto cumulative. Benché sia attesa una eterogeneità lieve, trattandosi di studi condotti sulla stessa coorte, è stato ugualmente effettuata una verifica attraverso il Random Fixed model e il Cochrane Q test. Le stime cumulative sono presentate con intervalli di confidenza al 95%. I biomarcatori quando predittori di una stessa variabile sono stati assunti quali "predittori" omogenei ai fini della valutazione di una stima cumulativa nella metanalisi.

**Risultati**

Dei 15 (1, 2; 6-16) studi inizialmente individuati tramite la ricerca solo 14 sono stati inclusi nella presente review, 6 sono stati eleggibili alla ricerca di stime cumulative (Figura 2) e uno è stato escluso in quanto non condotto nell'ambito del Progetto Atena (9).

Tra gli articoli inclusi nella analisi i biomarcatori scelti sono stati le alterazioni lipidiche, il glucosio plasmatico, la creatinina, la Lipoproteina (a), Lp(a), quali prognostici in quanto correlati ad una au-



**Figura 2** - Prognostic Biomarkers - Outcome IMT.

mentata IMT. Per il contrasto basato su variabili discrete sono stati eletti 5 sui 6 studi che valutavano il rapporto biomarcatori/IMT (1, 10, 13, 16).

Nel contrasto che metteva in relazione gli studi che trattavano marcatori biochimici quali predittori di IMT, (*Figura 1*) sono stati presi in considerazione gli aumentati livelli di glicemia, creatinina e delle lipoproteine LDL piccole e dense e la Lp(a) al di sopra della mediana quali indici di “esposizione” biochimica e valutato l’OR per l’aumentato IMT. Per quanto attiene la Lp(a) i dati del contrasto immessi nella metanalisi non sono pubblicati, ma ricavati dal database utilizzato nel modello di elaborazione multivariato presente nell’articolo. L’OR cumulativo è risultato significativo (IC: 2,47-7,20).

Tutti e quattro studi sono a favore dei non esposti, la significatività cumulativa è più forte di quella dei singoli studi. Lo studio con maggiore impatto e con la stima puntuale più forte è risultato quello relativo alla Lp(a).

### Discussione

Presi complessivamente gli studi sui biomarcatori condotti nel progetto Atena, rivelano un potenziale sia predittivo, che prognostico di diversi “marcatori biochimici”. Il valore degli studi effettuati valutando anche l’ispessimento medio-intimale carotideo permette di riconoscere ai biomarcatori studiati un valore prognostico, con una modificazione della probabilità post test nella valutazione del rischio. Questo ne fa dei candidati ad essere inseriti nella valutazione “core” dei Percorsi Diagnostici e Terapeutici (PDTA), particolarmente per quelli specifici sulla salute della donna. Il PDTA è uno stru-

mento di governo dei processi produttivi ospedalieri dal punto di vista clinico, organizzativo e di costo pensato per migliorare la gestione del paziente. In altri termini, esso è l’iter assistenziale che un paziente segue (o dovrebbe seguire) per risolvere un problema di salute. La scelta di definire un PDTA riveste una tappa importante in termini epidemiologici, economici e di impatto sulla qualità della vita dei pazienti trattati. Dal punto di vista dei cittadini e dei pazienti uno dei principali problemi nel campo dei marcatori è la comunicazione delle informazioni. La ricerca di base in questo settore è particolarmente intensa e porta frequentemente a risultati promettenti, ma il percorso di validazione e di collaudo è purtroppo molto lungo e laborioso: pochissime molecole poi sono di fatto utilizzate nella pratica clinica. I marcatori possono essere utilizzati come test di diagnosi per eventualmente prendere decisioni cliniche solo se rispondono a tre requisiti particolari:

- a) devono essere misurabili con metodi standardizzati che garantiscano risultati affidabili e riproducibili;
- b) devono essere sottoposti a programmi di controllo di qualità che ne valutino l’affidabilità nel tempo;
- c) devono essere espressamente associati a un determinato processo biologico e al comportamento clinico che ne deriva; devono essere utili per gli snodi decisionali successivi.

I marcatori biochimici associati alla valutazione della IMT corrispondono a questi requisiti. Complessivamente la valutazione cumulativa dimostra l’importanza di combinare i marcatori biochimici prognostici per una valutazione più compiuta del rischio di ispessimento carotideo e quindi di mortalità cardiovascolare.

## RIASSUNTO

Il Progetto Atena è stato realizzato su 5.062 donne di età compresa tra 30 e 69 anni residenti nella zona di Napoli. Scopo di questo studio è indagare le cause di quelle malattie croniche che hanno un forte impatto sulla popolazione femminile. Questa revisione sistematica e meta-analisi sono state condotte utilizzando studi pubblicati per stimare il potenziale prognostico o predittivo dei biomarcatori, valutati in studi annidati nella coorte Atena. Gli studi sono stati ricercati utilizzando PubMed, la biblioteca Cochrane e i database di Google scholar. Gli studi sono stati selezionati per questa revisione se condotti nell'ambito del progetto Atena Cohort e riportato lo studio del biomarcatore. Lo studio è stato valutato da due ricercatori indipendenti utilizzando ai seguenti criteri di inclusione:

- 1) studio svolto nella comunità o nella popolazione;
- 2) studi che hanno riportato i biomarcatori.

I dati estratti sono stati inseriti e analizzati utilizzando il software REVMAN. La strategia di ricerca ha recuperato 15 articoli potenziali e 6 studi sono stati trovati idonei e inclusi nell'analisi delle stime aggregate. Nell'analisi sono stati valutati lipidi plasmatici, creatinina, glucosio, Lp (a) e spessore medio intinale (IMT), un marker di aterosclerosi. Le stime raggruppate sono state mostrate nei grafici di Forrest. Le stime aggregate hanno verificato il potenziale prognostico del biomarker come predittore di IMT. I risultati sono coerenti con il profilo multifattoriale del rischio CV e identificano il valore prognostico della valutazione IMT e il suo impatto nella prevenzione secondaria in base ai profili biochimici.

**Parole chiave:** *Donne, progetto Atena, biomarcatori, malattie cardiovascolari.*

## Bibliografia

1. Iannuzzi A, Celentano E, Panico S, Galasso R, Covetti G, Sacchetti L, et al. Dietary and circulating antioxidant vitamins in relation to carotid plaques in middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 582-587.
2. De Michele M, Panico S, Celentano E, Covetti G, Intrieri M, Zarrilli F, et al. Association of impaired glucose homeostasis with preclinical carotid atherosclerosis in women: Impact of the new American Diabetes Association criteria. *Metabolism.* 2002; 51: 52-56.
3. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Marotta G, Rubba F, Iannuzzi A, et al. Association between Lp(a) and small dense LDL in menopausal women without metabolic syndrome. *Acta Cardiol.* 2018; 19: 1-5.
4. Levac D, Colquhoun H, O'Brien KK. Scoping studies: advancing the methodology. *Implementation science.* 2010; 5: 1-9.
5. Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology.* 2005; 8: 19-32.
6. Iannuzzi A, Gentile M, Iannuzzo G, Covetti G, Panico C, Mattiello A, et al. Atherogenic Lipoprotein Subfractions and Carotid Atherosclerosis in Menopausal Women. *Angiology.* 2018; 69: 666-671.
7. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Rubba F, Panico S, Rubba P. Association between body shape index and small dense LDL particles in a cohort of mediterranean women: findings from Progetto ATENA. *J Clin Biochem Nutr.* 2017; 61: 130-134.
8. Vatrella A, Calabrese C, Mattiello A, Panico C, Costigliola A, Chiodini P, Panico S. Abdominal adiposity is an early marker of pulmonary function impairment: Findings from a Mediterranean Italian female cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016; 26: 643-648.
9. Lotfi A, Mohammadi G, Tavassoli A, Mousaviagdas M, Chavoshi H, Saniee L. Serum levels of MMP9 and MMP2 in patients with oral squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015; 16: 1327-1330.
10. Gentile M, Panico S, Mattiello A, de Michele M, Iannuzzi A, Jossa F, et al. Plasma creatinine levels, estimated glomerular filtration rate and carotid intima thickness in middle-aged women: a population based cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24: 677-680.
11. Gentile M, Panico S, Rubba F, Mattiello A, Chiodini P, Jossa F, et al. Obesity, overweight, and weight gain over adult life are main determinants of elevated hs-CRP in a cohort of Mediterranean women. *Eur J Clin Nutr.* 2010; 64: 873-878.

12. Gentile M, Panico S, Jossa F, Mattiello A, Ubaldi S, Marotta G, et al. Small dense LDL particles and metabolic syndrome in a sample of middle-aged women. Findings from Progetto Atena. *Clin Chim Acta*. 2008; 388: 179-183.
13. De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, Celentano E, Ciardullo AV, Galasso R, et al. Association of obesity and central fat distribution with carotid artery wall thickening in middle-aged women. *Stroke*. 2002; 33: 2923-2928.
14. Rubba P, Panico S, Bond MG, Covetti G, Celentano E, Iannuzzi A, et al. Site-specific atherosclerotic plaques in the carotid arteries of middle-aged women from southern Italy: associations with traditional risk factors and oxidation markers. *Stroke*. 2001; 32: 1953-1959.
15. Muscari A, Bozzoli C, Massarelli G, Puddu GM, Palareti G, Legnani C, et al. Complement components and fibrinogen: correlations and association with previous myocardial infarction. *Cardiology*. 1995; 86: 232-237.
16. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Marotta G, Iannuzzi A, Panico S, Rubba P. Association between Lp (a) and atherosclerosis in menopausal women without metabolic syndrome. *Biomark Med*. 2016; 10: 397-402.