

27. febbraio

## Lo studio MIMI (Markers of Imminent Myocardial Infarction: identificazione dei markers di infarto miocardio imminente)

*L'uomo di per sé non è nulla.  
E' solo una possibilità infinita.  
Ma è il responsabile infinito di questa possibilità.*  
Albert Camus

Nonostante il calo dei tassi standardizzati per età, l'infarto del miocardio rimane la principale e crescente causa di morte a livello globale. La prevenzione dell'infarto miocardico ha la massima priorità, ma l'ottimizzazione degli sforzi di prevenzione primaria è ostacolata da mezzi inefficienti per identificare i soggetti a più alto rischio di **infarto miocardico imminente (IMI)**.



Ciò potrebbe essere parzialmente spiegato dall'incapacità della maggior parte dei modelli di previsione del rischio di tenere conto della natura altamente dinamica del periodo che precede un infarto miocardico.

Ad esempio, eventi traumatici, come una diagnosi di cancro o la perdita del coniuge, aumentano notevolmente il rischio di infarto del miocardio

*Fang F et al. Suicide and cardiovascular death after a cancer diagnosis. N Engl J Med. 2012 Apr 5;366(14):1310-8.*

Inoltre, il grado di stenosi della lesione responsabile dell'arteria coronaria sembra aumentare nei mesi immediatamente precedenti l'infarto miocardico.

*Zaman T et al. Angiographic lesion severity and subsequent myocardial infarction. Am J Cardiol. 2012 Jul 15;110(2):167-72.*

Tuttavia, ad oggi, la maggior parte dei *biomarcatori* è stata studiata nell'arco di diversi anni di follow-up a causa del basso numero di individui con un primo infarto miocardico poco dopo il basale nella popolazione generale.

Pertanto, è necessario un ampio studio basato sulla popolazione incentrato sull'identificazione ***dei biomarcatori di un IMI.***

La prevenzione primaria per i *fattori di rischio asintomatici* per un lungo periodo è costosa e la motivazione dei pazienti e degli operatori sanitari è limitata anche per la prevenzione secondaria

La previsione del *rischio a breve termine* basata sui **biomarcatori dell'IMI** potrebbe far pendere la bilancia a favore della prevenzione, poiché la conoscenza di un aumento del rischio di un primo infarto miocardico nei prossimi mesi potrebbe motivare pazienti e medici a prendere in considerazione strategie preventive.

E' stato ipotizzato che **i biomarcatori circolanti** dei processi biologici dinamici che operano nei mesi precedenti un **infarto miocardico** potrebbero essere misurati e utilizzati per valutare il rischio. Abbiamo testato questo in un nuovo studio di coorte di casi nidificati e ideato un modello di previsione per un imminente primo infarto miocardico.

*Gustafsson S et al*

### **Markers of imminent myocardial infarction.**

Nat Cardiovasc Res **3**, 130–139 (2024)

<https://doi.org/10.1038/s44161-024-00422-2>

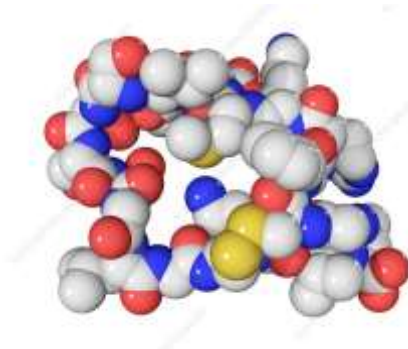
Qui, è stato costruito un nuovo **consorzio caso-coorte di 2.018** persone senza precedente malattia cardiovascolare provenienti da **sei coorti europee**, tra le quali **420 hanno sviluppato un primo infarto miocardico entro 6 mesi dal prelievo di sangue di riferimento.**

Sono state analizzate **817 proteine** e **1.025 metaboliti** nel sangue della biobanche e **16 variabili cliniche.**

**Quarantotto proteine,**  
**43 metaboliti**

**Età sesso e pressione arteriosa sistolica** erano associati al rischio di un imminente primo infarto miocardico.

Il **peptide natriuretico cerebrale** era associato in modo più consistente al rischio di infarto miocardico imminente.



#### **Analisi dello studio e di alcuni risultati in dettaglio :**

Utilizzando variabili clinicamente facilmente disponibili, è stato creato un **modello di previsione** per un imminente primo infarto miocardico per uso clinico nella popolazione generale, con buone prestazioni discriminatorie e potenziale per motivare gli sforzi di prevenzione primaria.

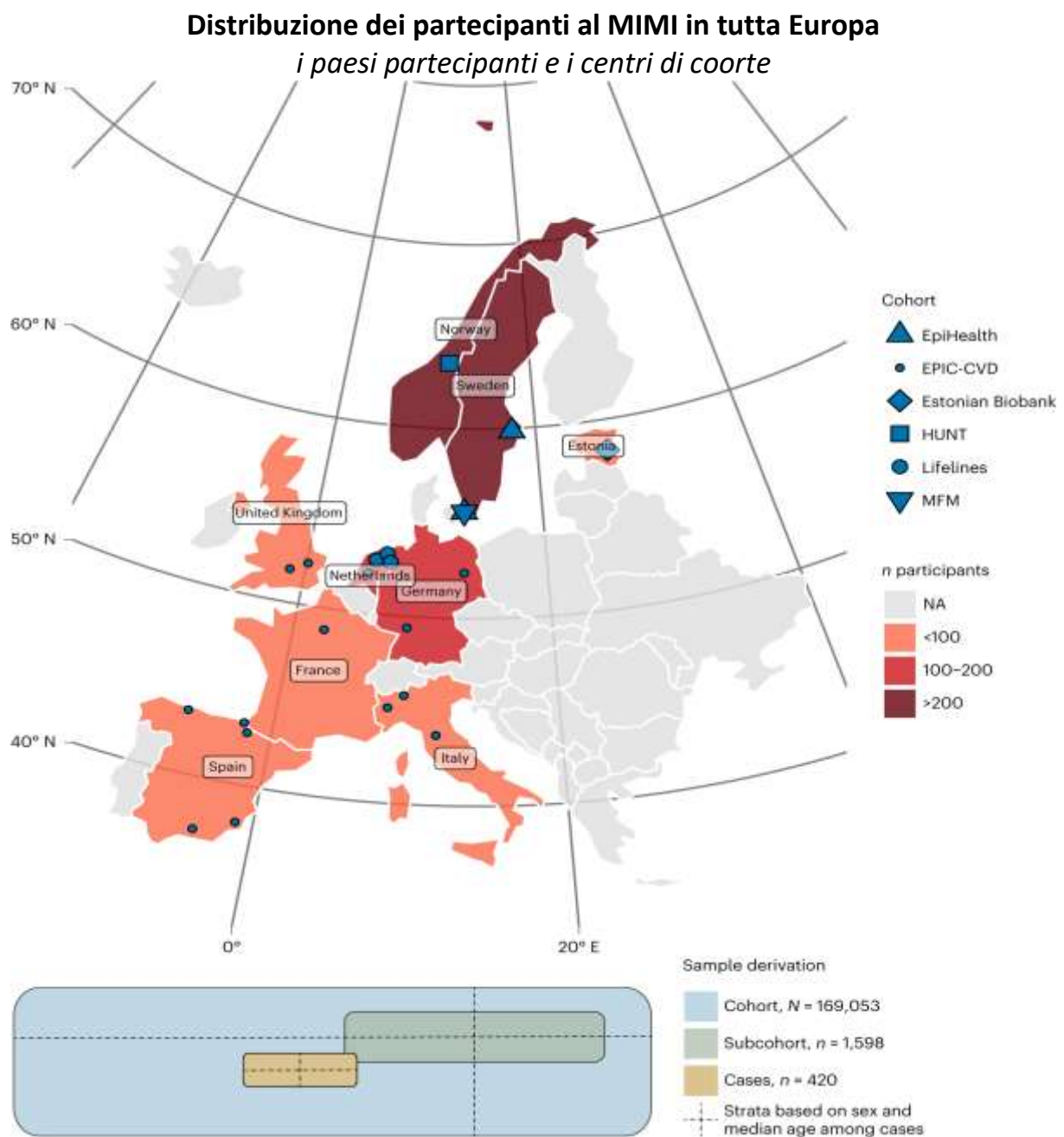
E' stato pertanto realizzato uno studio di coorte di casi nidificati, lo studio **Markers of Imminent Myocardial Infarction** (MIMI), studio che include individui inizialmente liberi da malattie cardiovascolari in sei coorti europee basate sulla popolazione generale che hanno sviluppato un

infarto miocardico entro i primi 6 mesi dall'esame di base, con un massimo di quattro rappresentanti della coorte per caso .

Il disegno caso-coorte consente analisi tempo-evento e la derivazione di modelli di previsione accurati; è anche meno soggetto a determinati bias rispetto al disegno caso-controllo .

Dopo le esclusioni, erano disponibili per l'analisi i dati di **2.018 individui** ponderati per rappresentare l'intera coorte di **169.053 persone** (420 casi IMI e 1.598 rappresentanti di sottocoorte).

Le loro caratteristiche al basale sono mostrate nella Tabella che segue



Inizialmente sono stati campionati i casi ( $n = 420$ ) e sono stati costruiti strati specifici per centro in base al sesso e all'età media. Da ciascun centro di coorte sono stati estratti fino a quattro

rappresentanti di sottocoorte per ciascun caso dallo stesso strato. È stata quindi assemblata una sottocoorte ( $n = 1.598$ ) ponderata per rappresentare la coorte totale ( $N = 169.053$ ) in base al numero di individui negli strati di età e sesso nella coorte totale. NA, non applicabile.

Successivamente, sono stati determinati i livelli di **817 proteine** (alcuni duplicati) e **1.025 metaboliti** nei campioni di plasma conservati in biobanche dagli esami basali della coorte in un laboratorio centrale e sonostate armonizzate **16 variabili cliniche** tra le coorti.

Sono state analizzate le associazioni di *proteine*, *metaboliti* e *variabili cliniche* con *il rischio di un primo infarto miocardico entro 6 mesi dal basale* utilizzando modelli di regressione a rischi proporzionali di Cox stratificati e ponderati nel campione scoperto. I biomarcatori che hanno superato più limiti di test (un tasso di false scoperte (FDR) Benjamini-Hochberg  $<0,05$ ) sono stati verificati negli stessi modelli nel campione di validazione (questo è stato fatto nei set di validazione esterna e interna), con risultati direzionalmente coerenti a  $P < 0,05$  considerato replicato.

Inoltre si è deciso di identificare e testare i biomarcatori e la prevedibilità di un imminente primo infarto miocardico utilizzando un nuovo consorzio di casi-coorte di individui senza precedenti malattie cardiovascolari e con campioni di sangue conservati in biobanche.

Da più di 1.800 biomarcatori, sono state identificate **48 proteine**, **43 metaboliti** e **3 variabili cliniche** associate al rischio di un imminente primo infarto miocardico indipendentemente dalle covariate tecniche.

Ulteriori analisi hanno rivelato che il **BNP è l'unico biomarcatore costantemente associato al rischio IMI**.

È stato così derivato un *modello di previsione* per discriminare tra casi successivi e non casi. *Il fenotipo IMI* è stato raramente studiato in modo prospettico nella popolazione generale e con un ampio pannello di biomarcatori. I risultati potrebbero avere implicazioni sia per gli studi clinici di prevenzione primaria che per ulteriori studi eziologici.

Lo studio ha dimostrato che **livelli più elevati di BNP** in individui senza una malattia cardiovascolare nota erano collegati a un rischio più elevato di un primo infarto miocardico entro 6 mesi in diversi modelli.

**I cardiomiociti** producono BNP in risposta al ceppo e la misurazione dell'NT-proBNP è un pilastro della gestione clinica dell'insufficienza cardiaca ma non viene utilizzata nella diagnosi dell'infarto miocardico

*Gulati M et al*

**Guideline for the Evaluation and Diagnosis of Chest Pain.**

**Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines.**

*Circulation. 2021 Nov 30;144(22):e368-e454.*

**La disfunzione diastolica** è una caratteristica precoce dell'ischemia miocardica e un livello di BNP più elevato in questo contesto è probabilmente sostenuto dalla disfunzione diastolica causata da ischemia subclinica in soggetti con un certo grado di stenosi coronarica.

Diversi meccanismi noti implicati nell'aterosclerosi e nell'ischemia erano rappresentati tra gli altri 94 biomarcatori associati a un'IMI sia nei campioni di scoperta che in quelli di validazione dopo aggiustamento per le covariate tecniche, tra cui infiammazione (IL-6)

*Rai H, Collieran R et al. Association of interleukin 6 -174 G/C polymorphism with coronary artery disease and circulating IL-6 levels: a systematic review and meta-analysis. Inflamm Res. 2021 Dec;70(10-12):1075-1087.*

metabolismo della matrice extracellulare (WAP four-disulfide core proteina di dominio 2 (WFDC2))

*Yamamoto M et al. Predicts Progressive Fibrosis and Cardiovascular Events in Patients With Dilated Cardiomyopathy. J Am Heart Assoc. 2021 Aug 3;10(15):e021069.*

ipertrofia (recettore di adesione accoppiato alla proteina G G1 (AGRG1) apoptosi (recettore scatenante espresso sulle cellule mieloidi 1 (TREM1), membro della superfamiglia del recettore del fattore di necrosi tumorale 10B (TRAIL-R2) ) e adesione cellulare (AGRG1

*Zhang Y et al. The RNA-binding protein PCBP2 inhibits Ang II-induced hypertrophy of cardiomyocytes though promoting GPR56 mRNA degeneration. Biochem Biophys Res Commun. 2015 Aug 28;464(3):679-84.*

Sono state registrate anche associazioni con marcatori che rappresentano meccanismi meno spesso implicati nelle malattie coronariche, come marcatori di danno renale (molecola di danno renale 1 (KIM1))

*McCarthy CP et al. Derivation and External Validation of a High-Sensitivity Cardiac Troponin-Based Proteomic Model to Predict the Presence of Obstructive Coronary Artery Disease. J Am Heart Assoc. 2020 Aug 18;9(16):e017221.*

della regolazione dell'appetito (fattore di differenziazione della crescita 15 (GDF15)) e un  $\alpha$ -ammino acido presente negli integratori alimentari e associato all'uso di paracetamolo (piroglutamina)

*Liss Dbet al. What is the clinical significance of 5-oxoproline (pyroglutamic acid) in high anion gap metabolic acidosis following paracetamol (acetaminophen) exposure? Clin Toxicol (Phila). 2013 Nov;51(9):817-27.*

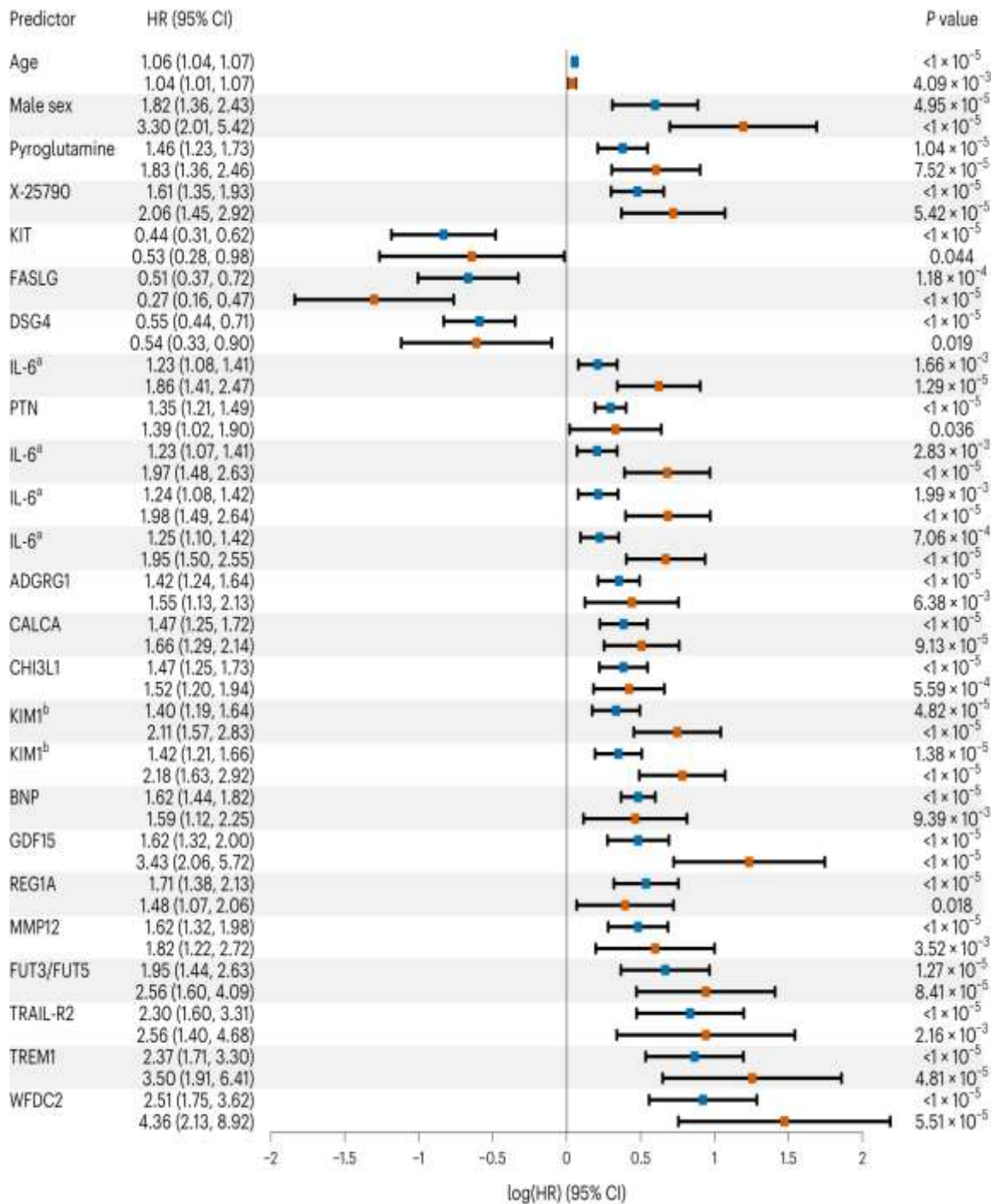
Questi risultati potrebbero accelerare ulteriori studi eziologici sugli eventi coronarici acuti.

Alla luce dei risultati è stato sviluppato un **modello di previsione per l'IMI** nella popolazione generale. Un infarto imminente è difficile da prevedere; i segnali sono deboli e abbiamo dovuto affrontare limitazioni di potenza. Il modello ha raggiunto una buona capacità discriminativa, con una calibrazione accettabile nella fascia di rischio più bassa.

È possibile trasporre ad altre impostazioni inserendo i rischi di base e le medie variabili di tali impostazioni, ad esempio, in modo interattivo su [miscore.org](https://miscore.org).

Dato il crescente peso globale delle morti per infarto miocardico, l'importanza di prevederle e di aumentare la motivazione individuale per prevenire tali morti può essere sostanziale; questo può essere testato in studi clinici.

## Elenco dei primi 25 biomarcatori che hanno superato la validazione esterna



I marcatori sono classificati in base al numero di suddivisioni della validazione interna in cui il biomarcatore ha superato i criteri di replica nel modello aggiustato per le covariate tecniche oltre alla validazione esterna. Ogni predtore è rappresentato da due righe, con il risultato della scoperta (blu) presentato per primo e il risultato della convalida presentato per secondo (rosso). I risultati vengono ordinati per tipo di predtore (clinico, metabolita o proteina) e dimensione dell'effetto dall'analisi combinata dei campioni di scoperta e convalida. Il valore P è stato calcolato sulla base di un test Wald 2 df per i metaboliti analizzati utilizzando il metodo dell'indicatore mancante (biomarcatore e indicatore mancante) e un test Wald 1 df altrimenti (solo biomarcatore), bilaterale in entrambi i casi. L'IC al 95% della stima puntuale (log(HR)) è stato calcolato solo per il biomarcatore e potrebbe includere 1 anche se  $P < 0,05$  dal test Wald 2 df (biomarcatore + indicatore). ai valori di IL-6 e KIM1 sono stati determinati da più pannelli Olink e testati in



test statistici separati.  $n = 296$  casi e 1.121 non casi nel campione scoperto;  $n = 124$  casi e 477 non casi nel campione di validazione.

**In conclusione**, sono stati identificati *i biomarcatori associati al rischio di un imminente primo infarto miocardico, incluso il BNP*. La delineazione dei distinti processi biologici che operano nei mesi precedenti il primo infarto miocardico sarà fondamentale per scoprire obiettivi di prevenzione. E' stato messo a punto un **modello di previsione** con una discreta capacità di discriminare tra persone con e senza rischio di un primo infarto miocardico imminente.

Una **previsione del rischio** a breve termine può aumentare la motivazione dei pazienti e dei medici verso una incisiva prevenzione primaria.

*La domanda di un medico di famiglia del secolo scorso*

## Ma che cosa sono "CRISPR e "CAS"?

Premessa. Un collega (vicino agli 80 anni) che lavora da sempre in un piccolo paese del Cilento mi ha chiesto in una cortese mail di sapere "in poche parole (non più di mille...) " cosa indicano le sigle CRISPR e CAS che vede comparire sempre più spesso nelle riviste divulgative mediche

**CRISPR** è una tecnologia che può essere utilizzata per modificare i geni e, come tale, probabilmente cambierà il mondo. L'essenza di **CRISPR** è semplice: è un modo per trovare un frammento specifico di DNA

all'interno di una cellula. Successivamente, il passo successivo *nell'editing genetico* CRISPR è solitamente quello di alterare quel pezzo di DNA. Tuttavia, CRISPR è stato adattato anche per fare altre cose, come accendere o spegnere i geni senza alterarne la sequenza.

Esistevano modi per modificare i genomi di alcune piante e animali prima che il *metodo* CRISPR fosse presentato nel 2012, ma ci sono voluti anni e sono costati centinaia di migliaia di dollari/euro. CRISPR lo ha reso semplice ed economico.

CRISPR è già ampiamente utilizzato per la ricerca scientifica e in un futuro non troppo lontano molte piante e animali nelle nostre fattorie, giardini o case potrebbero essere stati alterati con CRISPR. In effetti, alcune persone stanno già mangiando inconsapevolmente cibo CRISPRed

La *tecnologia* CRISPR ha anche il potenziale per trasformare la medicina, permettendoci non solo di curare ma anche di prevenire molte malattie. Potremmo anche decidere di usarlo per modificare il genoma dei nostri figli. Un tentativo in Cina è stato condannato come prematuro e non etico, ma alcuni pensano che potrebbe portare benefici ai bambini in futuro.

CRISPR viene utilizzato anche per tutti gli altri scopi, dall'impronta digitale delle cellule alla registrazione di ciò che accade al loro interno, alla direzione dell'evoluzione e alla creazione di *"gene drive"* *elementi genetici che aumentano il tasso di ereditarietà di una determinata proprietà in organismi che si riproducono sessualmente e che possono essere utilizzati per diffondere una determinata proprietà in popolazioni che vivono allo stato selvatico, al fine di modificarle o ridurle.*

La chiave di CRISPR sono le numerose versioni delle *proteine "Cas"* presenti nei batteri, dove aiutano a difendersi dai virus. La *proteina Cas9* è la più utilizzata dagli scienziati. Questa proteina può essere facilmente programmata per trovare e legarsi a quasi qualsiasi sequenza bersaglio desiderata, semplicemente dandogli un pezzo di RNA per guidarla nella sua ricerca.

Quando la proteina CRISPR Cas9 viene aggiunta a una cellula insieme a un pezzo di RNA guida, la proteina Cas9 si collega all'RNA guida e quindi si muove lungo i filamenti del DNA finché non trova e si lega a una sequenza lunga 20 lettere di DNA che corrisponde a parte della sequenza dell'RNA guida. È impressionante, dato che il DNA racchiuso in ciascuna delle nostre cellule ha sei miliardi di lettere ed è lungo due metri.

Ciò che accade dopo può variare. La *proteina Cas9* standard taglia il DNA nel bersaglio. Quando il taglio viene riparato, vengono introdotte mutazioni che solitamente disabilitano un gene. Questo è di gran lunga l'uso più comune di CRISPR. Si chiama editing del genoma, o editing genetico, ma di solito i risultati *non sono così precisi* come suggerisce il termine.

CRISPR può anche essere utilizzato per apportare modifiche precise come la sostituzione di geni difettosi, il vero editing genomico, ma questo è molto più difficile.

Sono state create *proteine Cas* personalizzate che non tagliano il DNA né lo alterano in alcun modo, ma semplicemente attivano o disattivano i geni: rispettivamente CRISPRa e CRISPRi.

Altri ancora, chiamati *redattori di base*, cambiano una lettera del codice DNA in un'altra.

Le *proteine Cas* vengono utilizzate dai batteri per distruggere il DNA virale. Aggiungono frammenti di DNA virale al proprio genoma per guidare le proteine Cas, e gli strani schemi di questi frammenti di DNA sono ciò che ha dato il nome a CRISPR: brevi ripetizioni palindromiche raggruppate regolarmente interspaziate, ma questo esula dalla richiesta di chiarimento.

*Spero con queste 675 parole di aver esaudito alla richiesta del collega che ringrazio e saluto affettuosamente*