

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



**DOTTORATO DI RICERCA IN
MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE**

CURRICULUM IN SCIENZE MEDICHE TRASLAZIONALI

XXXIV Ciclo
(Anni 2018-2021)

Coordinatore: Prof. Francesco Beguinot

TESI DI DOTTORATO

TITOLO

**La sindrome da deficit multi-ormonale (MHDS) predice l'outcome
nell'insufficienza cardiaca cronica: risultati del registro T.O.S.CA.**

TUTOR

**Chiar.mo
Prof. Antonio Cittadini**

CANDIDATO

Dott. Michele Arcopinto

INDICE

I. INTRODUZIONE	pag. 3
II. INSUFFICIENZA CARDIACA	pag. 9
Definizione	pag. 9
Terminologia e classificazione	pag. 10
Epidemiologia	pag. 11
Fisiopatologia	pag. 12
III. STUDIO	pag. 17
Obiettivi	pag. 17
Materiali e metodi	pag. 17
Disegno dello studio	pag. 17
Definizione di deficit ormonali	pag. 19
Raccolta dati	pag. 20
Misurazioni	pag. 21
Follow up	pag. 23
Calcolo della dimensione del campione	pag. 24
Misure di outcome	pag. 25
Analisi statistiche	pag. 25
Risultati	pag. 27
Discussione	pag. 38
Limitazioni dello studio	pag. 43
IV. BIBLIOGRAFIA	pag. 44

Capitolo I. Introduzione

L'insufficienza cardiaca cronica (ICC) è universalmente riconosciuta come uno dei principali problemi sanitari dei nostri tempi per la sua crescente prevalenza e incidenza dei costi ad essa correlati ¹. A questo si aggiunge l'evidenza che, al contrario di altre patologie cardiovascolari, la sua prognosi è ancora insoddisfacente nonostante la recente implementazione di altre strategie farmacologiche e la ottimizzazione della terapia elettrofisiologica.

I complessi meccanismi fisiopatologici dell'ICC, sono attualmente sintetizzati all'interno del cosiddetto modello “neuro-ormonale” ^{2,3}, ovvero descritti come una eccessiva attivazione di diversi *pathways* sistemici, quali ad esempio il sistema nervoso simpatico (SNS), il sistema renina-angiotensina-aldosterone (SRAA), il sistema delle citochine e quello dei peptidi natriuretici. Questa iperattivazione sarebbe innescata dalla progressiva incapacità del cuore di far fronte alle esigenze metaboliche dell'organismo e rappresentano una iniziale risposta sistemica compensatoria, la quale – in assenza della risoluzione del quadro di ICC – tende a cronicizzarsi fino a divenire dannosa in quanto associata con una più rapida progressione di malattia, se non contrastata. La farmacologia attuale della ICC, infatti, è volta essenzialmente al contrasto di questa *upregulation* ormonale: i farmaci impiegati correntemente nella ICC comprendono essenzialmente i beta-bloccanti (SNS) gli ACE-inibitori/sartanici e gli antagonisti dei mineralcorticoidi (SRAA) e gli inibitori della neprilisina (sistema dei peptidi natriuretici).

Per quanto la prognosi negli ultimi 30 anni sia migliorata grazie a questi approcci, la prognosi ancora non soddisfacente nella ICC ha incoraggiato la ricerca di altri modelli fisiopatologici complementari a quello neuro-ormonale, per immaginare altre soluzioni terapeutiche.

A questo proposito, una serie di evidenze scientifiche suggeriscono che - accanto alla iperattività neuro-ormonale - possa coesistere una riduzione dell'attività di altri pattern ormonali nella ICC, stavolta a forte impronta anabolica, fenomeno peraltro osservabile anche in altre condizioni patologiche croniche. Dopo iniziali osservazioni sulla importanza prognostica di singoli deficit ormonali e alcuni tentativi di terapia ormonale nella ICC, la sindrome da deficit ormonali multipli (*multi hormone deficiency syndrome*, MHDS) è stata proposta come entità nosologica per la prima volta circa 15 anni fa⁴ e definita come la compromissione di diversi assi ormonali a funzione prevalentemente anabolica (l'asse dell'ormone della crescita, *growth hormone*, GH - e del suo effettore periferico, *insulin-like growth factor* – IGF-1, gli ormoni tiroidei, gli ormoni steroidei anabolici e l'insulina)⁴⁻¹⁰. Stando alle evidenze finora disponibili, la presenza della MHDS sembra non costituire un mero epifenomeno della progressione della patologia, quanto piuttosto una ulteriore condizione associata *indipendentemente* ad un peggiore stato clinico e ad una ridotta capacità funzionale del paziente ICC⁴⁻⁹.

Un ampio spettro di anomalie dell'asse GH/IGF-1 è stato descritto nell'ICC, dal deficit di GH (GHD) ad una condizione di GH resistenza (alti livelli di GH e bassi livelli di IGF-1 circolanti), i quali possono presentarsi in diverse fasi della

patologia sottostante ^{4,11,12}. Tra questi, il GHD - presente in circa un terzo della popolazione affetta da ICC di grado lieve-moderato, è associato a peggiore funzionalità cardiaca, *performance* cardiopolmonare e peggiore prognosi ^{13,14}. A queste evidenze osservazionali sono seguiti alcuni studi preliminari sulla correzione del GHD con GH a dosi farmacologiche o sostitutive nei pazienti affetti da ICC con un risultato che complessivamente era di miglioramento clinico ^{15,16}.

Inoltre, i ridotti livelli di IGF-1, il principale mediatore delle azioni del GH, sono associati ad un aumento dell'attivazione neuroormonale e del sistema delle citochine infiammatorie oltre che ad una ridotta *performance* muscolare, disfunzione endoteliale e prognosi peggiore in pazienti con ICC ¹⁷⁻¹⁹.

Anche la funzione tiroidea presenta delle alterazioni nell'ICC: la sindrome da bassa triiodotironina (*Low T3 Syndrome*, LT3S) è una delle alterazioni descritte nell'ICC - soprattutto severo o riacutizzato - caratterizzata da ridotti livelli di T3 e livelli normali dell'ormone tireotropo (TSH). Questo deficit è dovuto ad una ridotta attività dell'enzima 5'monodeiodinasi, responsabile della conversione della tiroxina (T4) nella forma libera T3 a livello dei tessuti periferici ^{20,21}. Nella ICC, la prevalenza della LT3S può raggiungere anche il 10-15% e predice fortemente la mortalità dei pazienti ²².

Anche in questo caso è stata tentata la correzione della LT3S, seppure a breve termine, la quale si associa a parametri favorevoli sul piano fisiopatologico quali la riduzione dell'attività simpatica e dei livelli circolanti dei peptidi natriuretici, in

particolare del NT-terminale del *brain natriuretic peptide* (NT-proBNP), a sua volta riconosciuto come forte marker prognostico²².

I livelli sierici di testosterone libero (*free testosterone*, FT) e degli steroidi surrenalici quali il deidroepiandrosterone solfato (*Dehydroepiandrosterone-sulfate*, DHEA-S) risultano essere entrambi diminuiti in entrambi i sessi nei pazienti affetti da ICC⁵. Anche questa anomalia si associa sia alla severità della patologia sia ad una peggiore prognosi⁵.

Dati preliminari derivanti da trial clinici randomizzati sulla terapia sostitutiva con il testosterone hanno dimostrato, sia nell'uomo che nella donna, che il suo uso può rappresentare un approccio promettente nel trattamento dei pazienti affetti da IC^{23,24}. La resistenza insulinica (*Insulin Resistance*, IR) – associata o meno a diabete di tipo 2 (*type 2 diabetes*, T2D), è un altro *finding* frequentemente riscontrato nei pazienti affetti da ICC, con una prevalenza che varia dal 33 al 70% in seconda degli studi^{4,25}. Anche il grado di IR è inoltre significativamente associato ad un peggiore *status* clinico e ad una peggiore capacità funzionale e prognosi globale²⁶. A questo proposito, alcuni studi preclinici sull'IR, hanno evidenziato che la metformina, un farmaco capace di ridurre i livelli di IR, è in grado di rallentare la progressione dell'ICC e di migliorare la performance cardiopolmonare dei pazienti^{9,27,28}.

Le evidenze cliniche sul ruolo dei deficit ormono-metabolici finora riportate, rappresentano la base di partenza dello studio presentato. La prevalenza e le

implicazioni cliniche e terapeutiche dei principali deficit anabolici nell'ICC, derivanti dagli studi presenti in letteratura, sono riassunte nella **tabella 1**.

Tabella 1. Prevalenza, significato prognostico ed effetti della terapia di correzione dei principali deficit ormono-metabolici nell'ICC

Hormonal status	Prevalence (%)	Prognostic information	Chronic administration	Type of study	Survival benefit
GH Deficiency	30-40	Low IGF-1 is associated with reduced muscle strength and increased neurohormonal activation Low IGF-1 predicts all-cause mortality GH deficiency is associated with poor functional status and increased mortality	Improved exercise tolerance Reverse LV modeling	SB, RCT	Unknown
Testosterone Deficiency	20-25	Associated with reduced exercise tolerance	Improved exercise tolerance, insulin sensitivity and muscle strength	DB, PC, RCT	Unknown
Low T₃ Syndrome	13-30	Associated with increased all-cause mortality	Increased cardiac output	PC, RCT	Unknown
Insulin resistance	30-35	Associated with severity of Heart failure symptoms, reduced functional capacity, and poor survival	Improved exercise tolerance (metformin) Improved exercise tolerance and LV ejection fraction (GLP-1 agonist)	DB, PC, RCT	Unknown

GH: Growth Hormone; IGF-1: Insulin-like Growth Factor-1; LV: left ventricle; HF: Heart Failure; GLP-1: Glucagon-like Peptide-1;

(Tabella adattata da Arcopinto et al. ²⁵)

Nel complesso, queste anomalie configurano uno scenario in cui nell' ICC vi è un importante e fondamentale squilibrio anabolico-catabolico con una prevalenza dei meccanismi catabolici su quelli anabolici.

Ad oggi, i criteri diagnostici dei deficit anabolici nell' ICC e quindi la loro reale prevalenza non sono stati ancora stabiliti. Inoltre, ancora non sono stati completamente chiariti né la storia naturale della MHDS né il suo impatto nell'IC.

Per questo motivo nel 2013 è nato, nell'ambito del preesistente Progetto T.O.S.CA. (Trattamento Ormonale nello Scompenso CArdiaco)¹⁰, il Registro T.O.S.CA., una iniziativa multicentrica il cui obiettivo è quello di investigare l'impatto prognostico dei deficit ormonali e nello specifico della MHDS su una popolazione contemporanea, rappresentativa e ampia di ICC ²⁹.

In questo elaborato, dopo un primo capitolo in cui descriveremo in breve i moderni aspetti della ICC, presenteremo il razionale, il design e i risultati del Registro T.O.S.CA.

Capitolo II. Insufficienza cardiaca cronica

Definizione

L'insufficienza cardiaca (ICC) è classicamente definita come una condizione clinica in cui anomalie della struttura e/o della funzionalità cardiaca determinano l'incapacità del cuore di fornire un'ossigenazione adeguata per le richieste metaboliche dei tessuti periferici mantenendo fisiologiche pressioni di riempimento³⁰⁻³³.

Dal punto di vista clinico, è caratterizzata dalla presenza di sintomi tipici (quali dispnea ed astenia) che possono essere accompagnati da segni tipici (quali turgore delle giugulari, rantoli polmonari, edema periferico)^{30,31}. Le caratteristiche cliniche tipiche riportate per l'ICC rimandano ai due cardini della sua fisiopatologia ovvero alla ridotta capacità nella funzione di pompa del cuore (astenia, dispnea da sforzo) e alle conseguenze della congestione a monte del ventricolo sinistro (ortopnea, turgore delle giugulari, edema periferico)³⁴.

La definizione attuale, ripresa dalle *2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure*³⁰, si basa quindi sulla presenza dei sintomi tipici della ICC ovvero si riferisce alla forma conclamata di ICC. Bisogna tuttavia considerare che, prima che il corteo sintomatologico si manifesti, i pazienti possono presentare anomalie strutturali e/o funzionali del cuore che hanno nella propria evoluzione naturale lo sviluppo della sintomatologia tipica.

Terminologia e classificazione

La classificazione della ICC può essere declinata in vari modi.

Frazione di eiezione del ventricolo sinistro - Una prima e maggiormente accettata classificazione si ottiene in base alla determinazione ecocardiografica della frazione di eiezione del ventricolo sinistro (FEVS), ovvero la percentuale di volume telediastolico eiettata in aorta durante la sistole secondo la formula:

$$\frac{\text{volume telediastolico} - \text{volume telesistolico}}{\text{volume telediastolico}}$$

Distinguiamo così vari tipi di ICC (tabella 2):

- ICC con FEVS normale, $\geq 50\%$, che configura la ICC con frazione di eiezione conservata (*Heart Failure with preserved Ejection Fraction – HFpEF*). I pazienti con questa forma di ICC non hanno un ventricolo sinistro dilatato, ma spesso hanno un aumento dello spessore della sua parete e/o un incremento di volume dell'atrio sinistro, entrambi segni di un'aumentata pressione di riempimento ventricolare telediastolico. Molti di questi pazienti, infatti, mostrano segni di alterato riempimento che consentono di identificare la disfunzione diastolica come principale substrato causale di questa tipologia di HF, pur coesistendo lievi alterazioni della funzione sistolica.
- IC con FEVS compresa tra 40 e 49% ovvero ICC con FEVS lievemente ridotta (*Heart Failure with mildly reduced Ejection Fraction, HFmrEF*) che

rappresenta una entità nosologica di recente introduzione nelle linee guida europee. La sua caratterizzazione come entità clinica a sé stante, ne favorirà l'approfondimento, consentendone una migliore definizione patofisiologica, clinica e terapeutica.

- ICC con FEVS ridotta, $< 40\%$ (*Heart Failure with reduced Ejection Fraction – HFrEF*). Rappresenta la forma di ICC cui si fa generalmente riferimento.

Classe New York Heart Association (NYHA) - Un'altra classificazione utile dal punto di vista clinico è la classificazione funzionale adoperata per valutare la severità dell'ICC introdotta dalla *New York Heart Association* (NYHA) ed è utilizzata per descrivere la severità della ICC valutando il grado di intolleranza all'esercizio fisico. Tale classificazione distingue quattro classi correlate all'insorgenza soggettiva di dispnea in rapporto all'attività fisica (dalla NYHA I in cui l'esercizio abituale non provoca dispnea alla NYHA IV in cui i sintomi sono presenti con qualunque livello di attività o di riposo).

Epidemiologia

La prevalenza dell'ICC è stimata ad oggi a circa 1-2% della popolazione generale adulta nelle nazioni industrializzate, e tende ad aumentare gradualmente fino ad attestarsi a più del 10% nei soggetti al di sopra dei 70 anni³⁵. In Europa, il rischio di sviluppare ICC al di sopra dei 55 anni nel corso della vita è di circa il 30%³⁶

Considerando il continuo invecchiamento della popolazione, la prevalenza dell'ICC è in continuo aumento, con proiezioni che stimano ad un aumento del 46% tra il 2012 ed il 2030 della patologia.

L'ICC con frazione d'eiezione ridotta e quella preservata sembrano avere differente epidemiologia ed eziologia. I pazienti con HFpEF sembrano essere prevalentemente di sesso femminile, più anziani, con storia di ipertensione arteriosa sistemica (circa 85% dei casi) e fibrillazione atriale mentre i pazienti con HFrEF sono più spesso uomini con una precedente storia di cardiopatia ischemica e generalmente esordio più precoce della patologia. Questo determina che, mentre nella popolazione generale l'ICC è più frequente negli uomini che nelle donne, stratificando i pazienti per età risulta un maggior numero di donne nella popolazione > 80 anni³⁷.

I miglioramenti terapeutici apportati negli ultimi decenni hanno consentito un miglioramento della prognosi, soprattutto per la forma HFrEF. Ciononostante la mortalità resta alta, con una stima a 5 anni del 50%^{2,37-39}, nel complesso più alta nei pazienti con HFrEF rispetto a quelli a funzione preservata⁴⁰.

Fisiopatologia

L'ICC può essere inquadrata come una patologia progressiva la cui insorgenza è data da un qualsiasi evento scatenante in grado di determinare un danno miocardico a cui segue una riduzione della contrattilità cardiaca; questo evento può avere un esordio acuto come nella cardiopatia ischemica o cronico come

l'ipertensione arteriosa o le valvulopatie con conseguente sovraccarico di pressione e volume ⁴¹.

Le conseguenze della riduzione della contrattilità sono l'aumento della pressione venosa a monte e/o la riduzione della gittata sistolica a valle del ventricolo sinistro. L'organismo reagisce con una serie di meccanismi il cui obiettivo è quello di mantenere la portata cardiaca su valori vicini alla normalità in modo da tenere il paziente in uno stato ancora asintomatico; i principali meccanismi attivati a questo scopo sono rappresentati dalla modulazione di alcuni *pathway* neuroendocrini, ovvero l'attivazione del Sistema Nervoso Simpatico (SNS), il Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterone (SRAA) e il sistema delle citochine. Tuttavia, l'attivazione prolungata di questi meccanismi comporta una serie di modificazioni recettoriali a livello periferico che determinano nel complesso un rimodellamento sfavorevole del ventricolo sinistro che comporta il passaggio da un ICC asintomatica ad una ICC sintomatica⁴².

Il rimodellamento consiste infatti in una ipertrofia ventricolare sinistra, accompagnata anche da un certo grado di fibrosi, con peggioramento della distensibilità parietale e una variazione geometrica con dilatazione della camera ventricolare e tendenza alla sfericità nelle forme HFrEF.

Il modello neuroormonale spiega meglio di quelli presi in considerazione in passato (modello cardiorenale, modello emodinamico) lo sviluppo della patologia e la sua progressione, attraverso l'iperpressione soprattutto del SNS e del SRAA; questi consentono il mantenimento della gittata cardiaca a fronte di un'aumentata

ritenzione idrosalina e di un incremento della contrattilità, unitamente all'attivazione dei mediatori dell'infiammazione responsabili della riparazione e del rimodellamento cardiaco. L'aumento dell'attività del SNS, difatti, contribuisce al processo per mezzo di meccanismi multipli che coinvolgono la funzionalità cardiaca, renale e vascolare: nel cuore, l'aumento dell'attività del SNS comporta la desensibilizzazione dei recettori β -adrenergici, l'ipertrofia dei miociti, la necrosi e la fibrosi; nei reni induce vasocostrizione arteriosa e venosa e l'attivazione del SRAA che comporta un'aumentata ritenzione di sale e acqua; nei vasi periferici la vasocostrizione neurogenica e l'ipertrofia vascolare. Fondamentale in questo modello è, quindi, la messa in opera del SRAA che comporta l'aumento dei livelli circolanti di Angiotensina II, potente vasocostrittore, che promuove la ritenzione di acqua e il riassorbimento di sodio grazie alla secrezione di Aldosterone. L'introduzione di tale teoria, ha permesso lo sviluppo di nuovi target terapeutici nel trattamento dell'ICC (ACE-Inibitori, antagonisti recettoriali dell'angiotensina II, antagonisti dell'aldosterone, beta-bloccanti), con un impatto di significativa riduzione della mortalità.

La validità del modello neurormonale ha però rivelato alcuni limiti. L'osservazione per la quale anche una terapia ottimizzata per ICC, pur consentendo una significativa riduzione nella velocità di progressione della malattia, non è in grado di risolvere la ICC, pone il problema di una insufficienza strutturale del modello e della sua applicabilità in termini terapeutici. In primo luogo, infatti, non possibile ottenere una completa inibizione del RAAS e del SNA

per gli effetti dose limitanti dei farmaci. In secondo luogo, è possibile che ci siano processi ignoti, aventi un ruolo ulteriore nella fisiopatologia e nella progressione dell'ICC. A sostegno di tale teoria è risultato evidente che l'insufficienza cardiaca, ad un certo punto della sua storia naturale, progredisca indipendentemente dallo stato neuro-ormonale, risulta pertanto evidente come il “modello neuro-ormonale” non sia sufficiente a spiegare le molteplici sfaccettature dell'ICC.

Negli ultimi anni, quindi, la comunità scientifica ha mostrato un sempre maggiore interesse verso la ricerca e lo sviluppo di modelli alternativi o complementari per poter spiegare la fisiopatologia dell'IC ed aprire nuove frontiere in senso terapeutico. In particolare, uno dei modelli complementari a quelli classici più accreditato, oggetto del presente studio, è il modello ormono-metabolico.

Modello ormono-metabolico

Questa è stata oggetto di numerosi studi, i quali hanno evidenziato una varietà di ormoni e segnali metabolici che potrebbero essere modificati nei pazienti con IC: tra questi sono compresi il calo dell'ormone della crescita (GH) e del suo effettore tissutale IGF-1, degli ormoni tiroidei e degli steroidi anabolizzanti e l'attivazione di numerose citochine quali IL-6, TNF- α , IL-1 che aumentano i propri livelli circolanti¹⁹. Queste scoperte hanno permesso di ipotizzare che l'insufficienza cardiaca sia in realtà una sindrome da deficit ormonali multipli (*multiple hormonal deficiency syndrome* - MHDS), caratterizzata da una riduzione del controllo ormonale che si associa a rilevanti implicazioni funzionali e prognostiche⁴⁻⁷.

Anche l'esperienza clinica suggerisce la possibile esistenza di un disequilibrio ormono-metabolico: la progressione dell'ICC verso la cachessia cardiaca, tipica degli stadi terminali di malattia, avviene quando il normale assetto catabolico/anabolico è alterato, con aumento del primo rispetto al secondo⁴. È comune, infatti, una deplezione di ormoni anabolici, testimoniata dall'incremento del metabolismo basale, che cresce con l'aumentare della classe NYHA. È nell'ambito di questo modello che nasce il registro TOSCA, il cui *Principal investigator* è il Prof. Antonio Cittadini, il cui scopo è determinare la prevalenza dei difetti ormono-metabolici in pazienti affetti da ICC con disfunzione sistolica, esplorandone la possibile associazione con particolari pattern clinici e morfo-funzionali, oltre che con squilibri di altri sistemi neuromorali^{8,10,29}. È inoltre valutato in maniera prospettica l'andamento clinico dei pazienti con deficit ormono-metabolici in termini di mortalità, eventi cardiovascolari, e cambiamenti nei parametri morfo-funzionali cardiaci.

Capitolo III. Studio

Obiettivi dello studio

Il Registro T.O.S.CA. è uno studio osservazionale, prospettico, multicentrico, disegnato per valutare la prevalenza dell'MHDS e il suo impatto sugli *outcomes* clinici nei pazienti con ICC. Lo studio è stato registrato su Clinicaltrials.gov (NCT02335801).

MATERIALI E METODI

Disegno dello studio

Il Registro T.O.S.CA., avviato originariamente nell'aprile 2015, comprende 19 centri partecipanti (Unità di Endocrinologia, Cardiologia e Medicina Interna con particolare interesse nella gestione dell'ICC) situati in tutta Italia (Elenco completo dei gruppi partecipanti in **Figura 1**).

Il registro T.O.S.CA. è stato progettato per raccogliere dati ormonali e clinici di pazienti con ICC che soddisfano i seguenti criteri di inclusione e di esclusione:

Criteri di inclusione:

1. Diagnosi di ICC a frazione di eiezione ridotta secondo le linee guida vigenti al momento dell'inizio dello studio;
2. ICC in terapia stabile da almeno 3 mesi, compresi i beta-bloccanti iniziati almeno 6 mesi prima dell'ingresso nello studio.

Criteri di esclusione:

1. recente scompenso acuto o sindrome coronarica acuta (< 6 mesi)
3. condizione endocrinologica nota necessitante terapia ormonale
4. neoplasia attiva
5. malattia epatica grave (Cirrosi CHILD B-C)
6. Livelli di creatinina sierica > 2,5 mg/dL.

Figura 1. Centri partecipanti al Registro T.O.S.CA.

- Heart Department, Cardiology Division, "Cava de' Tirreni and Amalfi Coast" Hospital, University of Salerno, Salerno, Italy
- Cardiology Unit, Cardiothoracic Department, University of Bari "Aldo Moro", Bari, Italy
- Interdisciplinary Department of Medicine-Section of Internal Medicine, Geriatrics, Endocrinology and Rare Diseases, University of Bari "A. Moro", Bari, Italy.
- Heart Transplantation Unit, Monaldi Hospital, Azienda Ospedaliera dei Colli, Naples, Italy
- Division of Cardiology SUN, Monaldi Hospital, Azienda Ospedaliera dei Colli, Second University of Naples, Naples, Italy
- Department of Health Sciences, University Magna Graecia of Catanzaro, Catanzaro, Italy
- Department of Advanced Biomedical Sciences, Federico II University of Naples, Naples, Italy
- Operative Unit of Endocrinology, Catholic University of the Sacred Heart, Rome, Italy
- Department of Medical Sciences, IRCCS San Raffaele Pisana, Rome, Italy
- Cardiology and Emergency Department, Hospital of San Daniele del Friuli, Udine, Italy
- Division of General Medicine, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italy
- Division of Cardiology, Salvatore Maugeri Foundation, IRCCS, Scientific Institute of Cassano Murge, Bari, Italy
- Unit of Endocrinology and Metabolic Diseases, Department of Medical and Surgical Sciences, University of Foggia, Italy
- Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze, Florence, Italy
- Department of Medical Sciences, School of Medicine, Pharmacy and Prevention, University of Ferrara, Ferrara, Italy
- Department of General Surgery and Medical-Surgery Specialties, University of Catania, Catania, Italy
- IRCCS. Oasi Maria SS, Troina, Italy
- IRCCS Policlinico San Donato, San Donato Milanese, Milan, Italy
- Ospedale Santa Maria della Pietà, Nola, Napoli, Italy
- IRCCS S.D.N., Naples, Italy

T.O.S.CA. Registry (Terapia Ormonale dello Scompenso Cardiaco)

Principal Investigator

Department of Translational Medical
Sciences, Federico II University of
Naples, Naples, Italy



T.O.S.CA. Network

Definizione dei deficit ormonali

La valutazione degli ormoni circolanti comprendeva la misurazione degli ormoni tiroidei (TSH, T3 libero e T4 libero), dell'asse GH/IGF-1, del testosterone totale, del DHEA-S e dell'insulina circolanti.

Gli ormoni sono stati analizzati in un laboratorio dedicato (IRCSS-SDN, Napoli, Italia) in collaborazione con il Centro di Coordinamento (Università Federico II). La biochimica clinica di routine e le valutazioni funzionali cardiovascolari sono state gestite nei centri periferici nei quali avveniva l'arruolamento e il follow-up. Ogni procedura e raccolta di campioni di sangue veniva ripetuta annualmente per tutta la durata dello studio. Le visite intermedie sono state programmate per il follow-up clinico, il monitoraggio della terapia e per raccogliere informazioni sugli eventi clinici rilevanti (mortalità e l'ospedalizzazione).

I deficit ormonali sono stati definite come segue:

1. Deficit di IGF-1: livelli sierici di IGF-1 inferiori al 33° percentile di una popolazione di controllo sana: 122 ng/ml (età < 55 anni); 109 ng/ml (55 anni < età < 64,9 anni); 102 ng/dl (65 anni < età < 74,9 anni); 99 ng/dl (età > 75 anni)⁶;
2. Deficit di testosterone: livelli sierici di testosterone inferiori a 300 ng/dl²³;
3. Deficit di DHEA-S: livelli sierici di DHEA-S inferiori a 80 µg/dl²³;
4. Sindrome da bassa T3: T3 libero nel siero inferiore a 2 pg/mL (3,1 mmol/L)²⁰;

5. Insulino-resistenza: presenza di diabete mellito di tipo 2 o HomeOstasis Model Assessment (HOMA-Index) maggiore di 2,5 (secondo la formula:
$$IR = \text{insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosio (mmol/L)} / 22,5)^{26}.$$

Ai fini dello studio, i pazienti sono stati classificati in due gruppi:

- (1) pazienti con 1 deficit ormono-metabolico o senza deficit ormono-metabolici (no MHDS);
- (2) pazienti con due o più deficit ormono-metabolici (MHDS).

Ai pazienti arruolati non sono stati somministrati ulteriori interventi terapeutici oltre alla terapia medica ottimale per ICC e per la correzione di eventuali altre comorbidità, a discrezione del medico di riferimento del paziente.

Raccolta dati

Dopo l'arruolamento di un paziente che soddisfaceva i criteri di inclusione/esclusione per il Registro T.O.S.C.A., veniva compilata online una *electronic Case Report Form* (eCRF) attraverso uno specifico portale web (URL: <http://www.registrotosca.com>).

L'eCRF raccoglie i dati clinici e strumentali e gli eventi clinici rilevanti osservati nel follow-up dei pazienti arruolati.

Per garantire l'anonimato ed evitare la duplicazione dei dati, un numero identificativo unico è stato assegnato a ciascun paziente. Questo sistema agevolava

l'estrazione dei dati e consentiva la revisione da parte degli investigatori clinici locali attraverso credenziali di accesso e password personali.

Gli elementi dei dati raccolti nel Registro T.O.S.CA. sono stati originariamente sviluppati e determinati collegialmente dal direttore dello studio e dai rappresentanti di ogni centro coinvolto

Misurazioni

All'ingresso dello studio, tutti i pazienti venivano sottoposti alle seguenti procedure (dettaglio in **tabella 2**):

1. esame clinico e anamnesi;
2. raccolta di dati antropometrici e terapia farmacologica/ elettrofisiologica;
3. estrazione e stoccaggio di campioni di siero e plasma (analisi centralizzate e per scopi di ricerca successivi;
4. elettrocardiogramma (EKG);
5. Ecocardiografia Doppler;
6. test da sforzo cardiopolmonare (CETP);
7. 24-h Holter EKG;
8. test del cammino di sei minuti (6MWT);
9. Minnesota che vive con il questionario di insufficienza cardiaca (MLWHFQ).

Gli investigatori locali erano tenuti a raccogliere tutti i dati durante il ricovero e ad aggiornare periodicamente l'eCRF fino alla fine della fase di follow-up.

Tutti gli eventi (il decesso, gli eventi cardiovascolari, l'ammissione non programmata in ospedale) venivano e raccolti per telefono o di persona durante le visite programmate.

Tabella 2. Dettaglio delle indagini diagnostiche al momento dell'arruolamento

Planned work-up for enrolled patients at baseline and annually follow-up	
Clinical data	Anthropometrics Body surface area CHF etiology* NYHA class Year of diagnosis* Medical/device therapy Comorbidity
Electrocardiography	Atrial fibrillation (yes/no) Left bundle branch block (yes/no) Pacemaker (yes/no)
Biochemistry	Electrolytes: K ⁺ , Na ⁺ , Ca ⁺⁺ , P Coagulation parameters Creatinine, BUN Bilirubin CPK, LDH, AST, ALT, ALP, uric acid Glycaemia, LDL, HDL and total cholesterol, triglycerides Serum proteins Complete blood cell count
Doppler Echocardiography	Interventricular septum (end-systole/end-diastole) Posterior wall (end-systole/end-diastole) Left ventricular diameter (end-systole/end-diastole) Left ventricular outflow tract Right ventricular outflow tract velocity time integral Pulmonary artery acceleration time Left ventricular volume (end-systole/end-diastole) Left atrial volume Right ventricular diastolic diameter Right atrial volume Tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) Mitral E velocity Mitral A velocity Mitral deceleration time Tissue Doppler imaging: E', A', S' Tricuspid regurgitation velocity peak Mitral regurgitation grading Aortic regurgitation grading Left ventricular outflow tract velocity time integral Aortic valve max and mean gradient Inferior vena cava diameter and collapse
24-h Holter EKG	Heart rhythm (sinus rhythm/atrial fibrillation/PMK) Mean, min, and max HR Supraventricular ectopic beats (<i>n</i>) Ventricular ectopic beats (<i>n</i> , Lown class)
Cardiopulmonary exercise stress testing	VO ₂ at anaerobic threshold Workload at anaerobic threshold HR at anaerobic threshold VO ₂ at peak exercise Workload at peak exercise SBP, DBP, HR at peak exercise VE/VCO ₂ slope Respiratory exchange ratio (RER) Heart rate reserve Heart rate at 2 min recovery Exercise duration
Quality of life	Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (21 items)
6-min walking test	Total distance Baseline and end-test Borg Dyspnea Scale score Baseline and end-test SBP, DBP, HR, SpO ₂
Hormonal evaluations (centralized)	Serum IGF-1 Serum total testosterone Serum DHEA-S Serum insulin

BUN blood urea nitrogen, *CHF* chronic heart failure, *CPK* creatinine phosphokinase, *DBP* diastolic blood pressure, *DHEA-S* dehydroepiandrosterone sulfate, *SBP* systolic blood pressure, *SpO₂* peripheral capillary oxygen saturation, *IGF-1* insulin growth factor-1, *NYHA* New York Heart Association, *PMK* pacemaker, *VE/VCO₂slope* The minute ventilation–carbon dioxide production relationship

*At baseline only

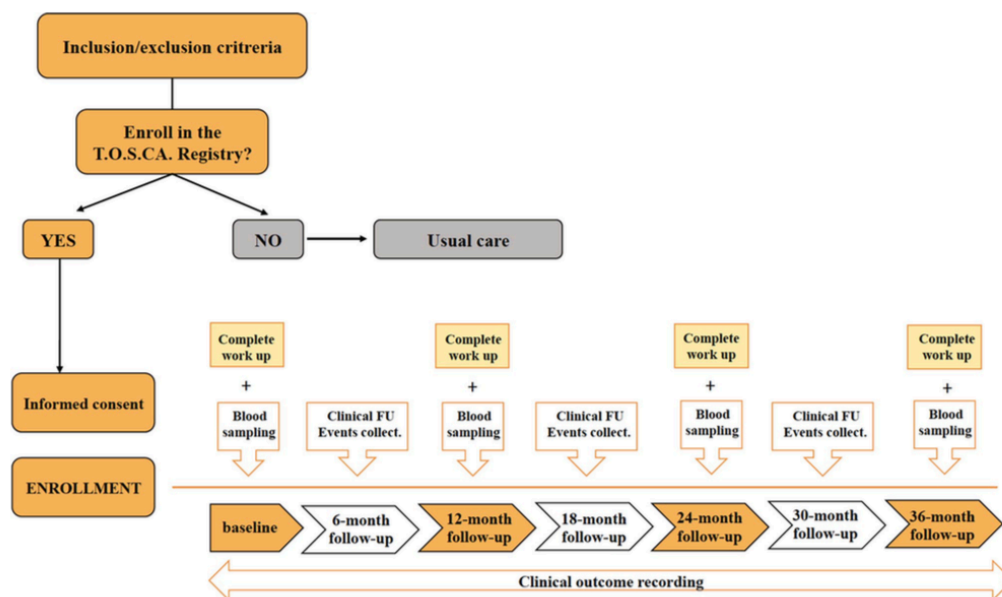
Follow-up

La durata dello studio è stabilita in 5 anni con un follow-up medio dei pazienti di 36 mesi.

Allo scopo di registrare tutte le visite pianificate e non pianificate e gli eventi clinici, le visite di follow-up venivano eseguite a 6, 12, 18, 24, 24, 30 e 36 mesi.

La raccolta dei campioni e tutte le procedure eseguite al basale vengono ripetute annualmente (**Figura 2**); le visite intermedie servono per la valutazione clinica e la raccolta degli eventi clinici.

Figura 2 Flow chart del follow up programmato per i pazienti arruolati



Calcolo della dimensione del campione (sample size)

I calcoli del *sample size* si sono basati sugli intervalli di confidenza al 95% per le stime dell'endpoint primario del Registro (endpoint composito di mortalità per tutte le cause o ospedalizzazione cardiovascolare). Il punto di partenza per la valutazione del *sample size* è stato il dato proveniente da 31 studi di coorte preesistenti di pazienti non selezionati con insufficienza cardiaca (sei studi clinici randomizzati e 24 registri osservazionali) esaminati nel Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC) il quale riporta una mortalità del 24% per tutte le cause durante un follow-up mediano di 2,5 anni⁴³. Inoltre, tenendo conto delle seguenti assunzioni:

- (a) incidenza conservativa dell'endpoint primario durante il follow-up mediano di 3 anni di circa il 35% nell'intera popolazione ICC;
- (b) l'aumento del composito di mortalità per tutte le cause o ospedalizzazione di un terzo nel sottogruppo classificato come MHD rispetto al sottogruppo non MHD;
- (c) il rapporto gruppo 1/gruppo 2 di circa 0,5;
- (d) la probabilità di errore di tipo I (α) a 0,05, la potenza dello studio ($1 - \beta$) a 0,80.

la dimensione originale del campione calcolato è di $n = 456$. Una successiva analisi ad interim pianificata è stata condotta dopo 18 mesi di follow-up e ha rivelato un tasso di mortalità per tutte le cause inferiore a quello originariamente previsto, $\approx$

5% annuo, mentre l'endpoint combinato di mortalità per tutte le cause e ospedalizzazione cardiovascolare ha prodotto un tasso di eventi simile a quello originariamente calcolato per la mortalità per tutte le cause. È stato quindi deciso dal comitato direttivo di modificare l'endpoint primario dalla mortalità per tutte le cause alla mortalità combinata per tutte le cause e all'ospedalizzazione cardiovascolare. È da notare che il tasso di eventi osservato era congruente con dati più recenti sui pazienti con CHF^{44, 45}.

Misure di outcome

1. Endpoint primario: composito di mortalità per tutte le cause e ospedalizzazione cardiovascolare;
2. Endpoint secondario: composito di mortalità cardiovascolare e ospedalizzazione, composito di mortalità per tutte le cause e ospedalizzazione, e cambiamenti nel picco VO₂;
3. Endpoint terziario: cambiamenti nella frazione di eiezione del LV, cambiamenti nei volumi del LV, cambiamenti nei livelli di NT-proBNP e cambiamenti nel punteggio MLWHFQ.

Analisi statistiche

Le variabili continue normalmente distribuite sono state espresse come media $\pm$ 1 deviazione standard, mentre i dati continui con distribuzioni asimmetriche sono stati espressi come mediana (intervallo interquartile). Le variabili categoriche sono

state espresse come numeri assoluti e percentuali. La distribuzione delle variabili è stata testata con il test di Kolmogorov-Smirnov.

L'associazione tra le variabili analizzate e la sopravvivenza sono state stabilite utilizzando le analisi di regressione di Cox. Sono stati utilizzati sia modelli lineari univariati che multivariati per valutare i potenziali predittori di sopravvivenza.

Per quanto riguarda le variabili ormonali, abbiamo considerato il singolo deficit ormonale (*Hormonal Deficit, HD*), la somma delle HD rilevate (0 = no deficit, 1 = 1 deficit, 2 = 2 deficit, 3 = 3 deficit ormono-metbolici o la presenza di una MHDS).

Per le analisi multivariate, i predittori noti di cattiva prognosi nell'insufficienza cardiaca sono stati impiegati come variabili (età, sesso, eziologia, classe NYHA, LVEF, obesità, bassi livelli di emoglobina, fibrillazione atriale, ridotta filtrazione glomerulare renale stimata (eGFR), e peptide natriuretico di tipo B (BNP).

Sono stati utilizzati due diversi modelli per testare l'endpoint primario: (i) Modello 1: diagnosi di MHDS;

(ii) Modello 2: pazienti stratificati per numero di HD. I risultati sono stati presentati come *hazard ratio (HR)* con intervalli di confidenza al 95% per un aumento unitario.

Le curve di Kaplan-Meier per la sopravvivenza cumulativa sono state costruite per valutare l'impatto della gravità del deficit anabolico sugli endpoint. Le differenze nei tassi di eventi tra i gruppi sono state confrontate con il test di Cox-Mantel log-rank.

RISULTATI

Popolazione di studio

Dalla coorte originale di 526 pazienti arruolati in 19 centri partecipanti da aprile 2013 a luglio 2017⁴⁶, per 480 pazienti erano disponibili dati ormonali completi. Pertanto questo numero rappresenta la numerosità del campione per la presente analisi. Nessun paziente è stato perso al follow-up. Le caratteristiche demografiche al tempo zero della coorte finale sono descritte nella **Tabella 3**.

L'età media (espressa come media $\pm$ SD) della popolazione di studio è di 62.5 $\pm$ 12.2 anni; il 19% dei pazienti è di sesso femminile, and l'84% dei pazienti si trova in classe funzionale NYHA II-III; la FE media è di 31.7 $\pm$ 7.4. Il 52% dei pazienti ha una eziologia ischemica. Il tempo di malattia (dalla diagnosi) espresso come mediana [IQR] è di 9 [5-15] anni.

Nessuna differenza è stata trovata per quanto riguarda il trattamento dell'insufficienza cardiaca. Nel complesso, MHDS è stato diagnosticato in 358 pazienti (74,6%). In particolare, il 5,8% non ha mostrato alcuna HD, il 19,6% solo una HD, il 32,9% due HD, il 27,9% tre HD e il 13,8% quattro o più HD.

Tabella 3. Caratteristiche cliniche e terapia in atto nella popolazione dello studio

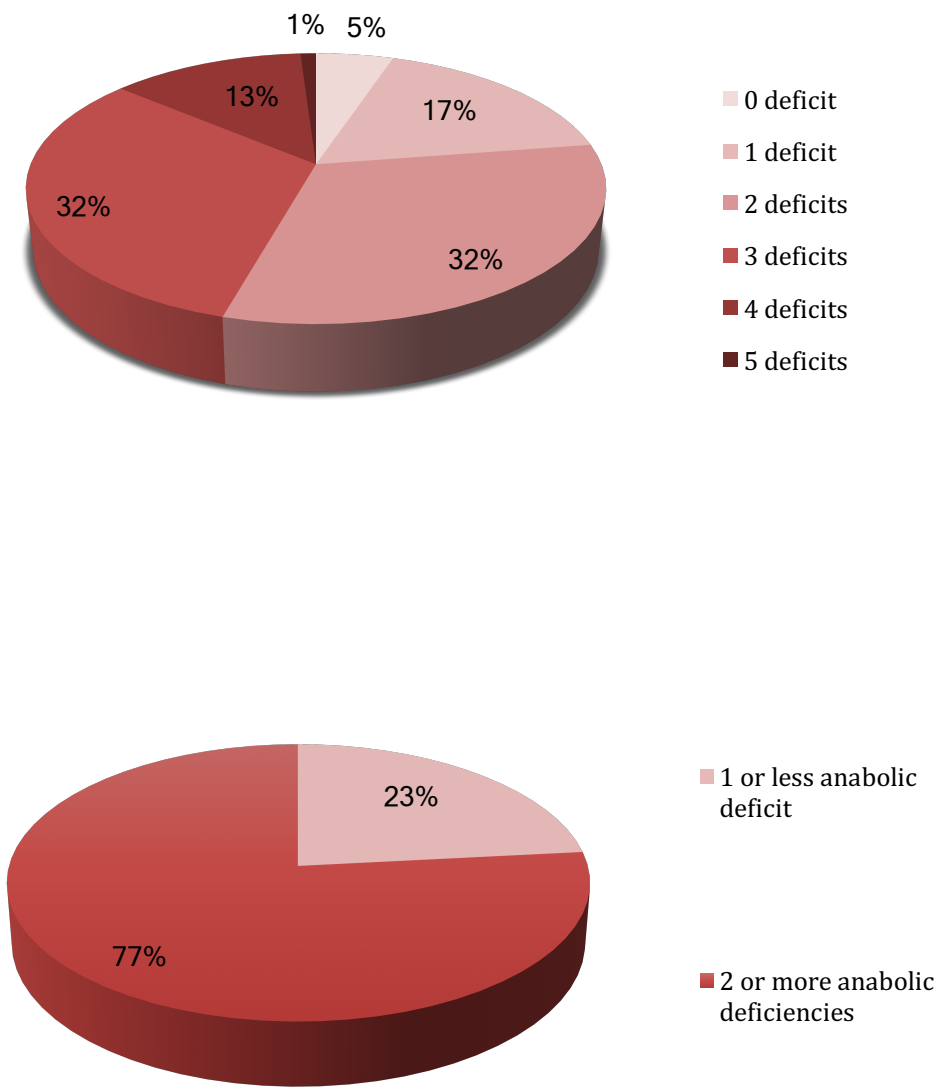
Variables	Cohort (n = 480)
Age (years)	63.7 ± 11.5
Sex (% male)	80.4
NYHA (% I/II/III/IV)	11/54/33/2
Aetiology (% ischaemic)	52.7
Yr. of disease	7 (2–12)
Systolic blood pressure (mmHg)	121 ± 17
Diastolic blood pressure (mmHg)	74 ± 10
Type 2 diabetes mellitus, n (%)	120 (25)
BMI (kg/m ²)	28.6 ± 5.4
eGFR (mL/min per 1.73 m ²)	86 ± 41
NT pro BNP (pg/mL)	909 (284–2521)
Left ventricular EF (%)	32.3 ± 7.2
Atrial fibrillation (%)	11.2
ICD (%)	36
CRT (%)	11.7
Medication (%)	
B-blocker	87.5
ACE-I/ARBs	86
MRA	39
Diuretics	69.4
Amiodarone	15.8
Digoxin	9.2
Antiplatelets	49
Antithrombotic	27.9
Lipid-lowering medications	51.9
Ivabradine	11
Antidiabetics	15.2
Insulin	10.6

ACE-I, angiotensin-converting-enzyme inhibitors; ARBs, angiotensin-receptor blockers; BMI, body mass index; CRT, cardiac resynchronization therapy; EF, ejection fraction; eGFR, estimated glomerular filtration rate (CKD-EPI); ICD, implantable cardioverter-defibrillator; NYHA, New York Heart Association; NT pro BNP, N-terminal proB-type natriuretic peptide.

In totale, meno del 5% della popolazione non mostrava deficit ormonali, il 49% della popolazione evidenziava 1 o 2 deficit, il 46% della popolazione evidenziava più di 2 deficit ormonali (**figura 3**).

Figura 3. Prevalenza dei deficit ormonali nella popolazione in oggetto espressi come numero cumulativo di deficit (sopra) e suddivisione dei pazienti in due gruppi in base al numero di deficit.

Number of Hormone Deficiency



Outcomes

Alla fine del follow-up (follow-up medio dei pazienti di 36 mesi), nell'intera popolazione 271 pazienti (56%) hanno raggiunto l'endpoint primario (97 decessi, 20% e 174 ricoveri per cause cardiovascolari, 36%). Come mostrato nella **Figura 4A**, il 62% dei pazienti del gruppo MHDS (221 eventi: 82 decessi, 23% e 139 ricoveri cardiovascolari, 39%), rispetto al solo 41% dei pazienti del gruppo NO-MHDS (50 eventi: 15 decessi, 12% e 35 ricoveri cardiovascolari, 29%), ha raggiunto l'endpoint primario, con un aumento del 50% dei pazienti con un evento nel gruppo MHDS ($P < 0,001$). Per quanto riguarda i pazienti con diabete mellito tipo 2 (T2D), l'endpoint primario è stato raggiunto nel 70% dei pazienti con diabete e nel 52% dei pazienti senza diabete ($P = 0,001$). Quando i 120 pazienti con diabete sono stati esclusi dall'analisi, il 34% dei pazienti del gruppo NO-MHDS ($n = 107$) (36 eventi: 11 decessi, 10% e 25 ricoveri cardiovascolari, 23%) e il 60% dei pazienti del gruppo MHDS ($n = 253$) (151 eventi: 52 decessi, 52% e 99 ricoveri cardiovascolari, 39%) raggiungeva l'endpoint primario ($P < 0,001$), con un aumento del rischio di oltre il 75% nel gruppo con MHDS.

Dall'analisi dei soli pazienti con T2D ($n = 120$) emergeva che nel 90% dei 31 pazienti MHDS veniva raggiunto l'endpoint primario, rispetto al 75% nei 89 NO-MHDS ($P < 0,01$).

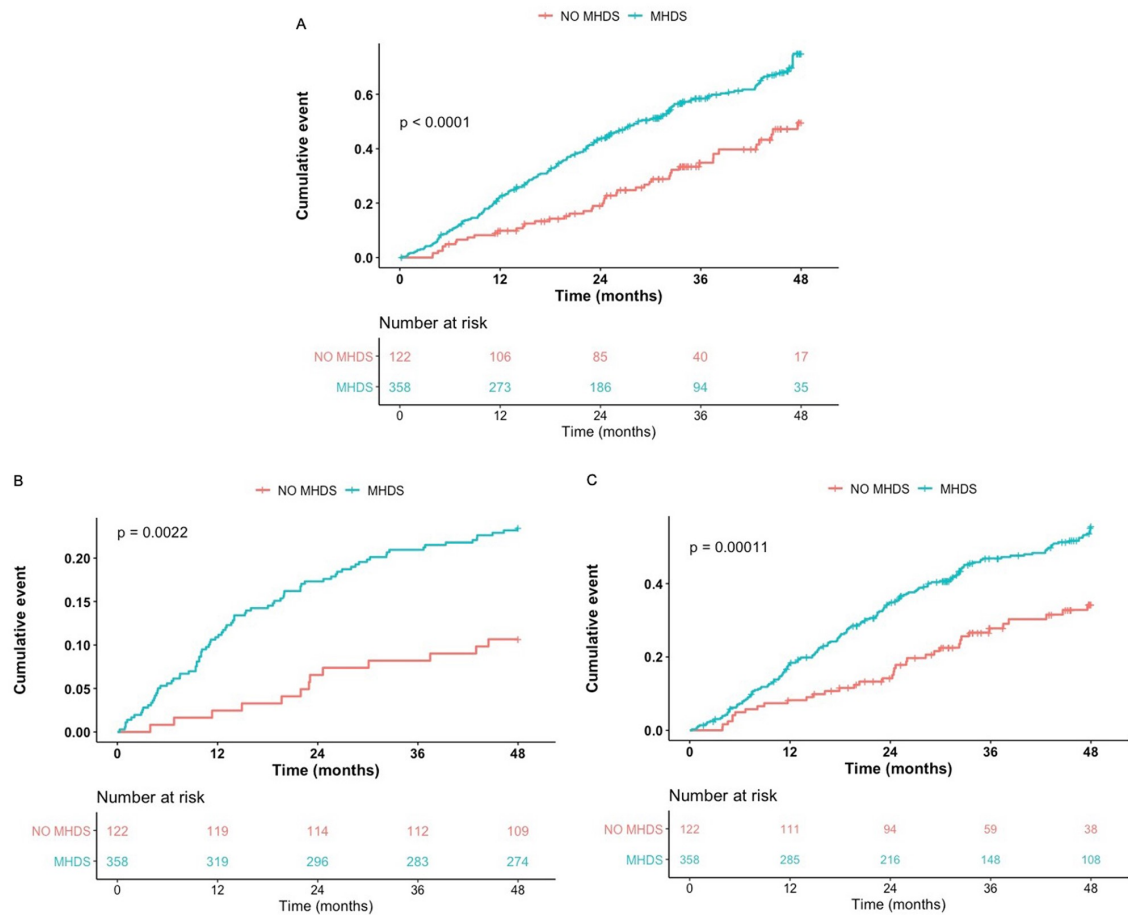
Analisi univariate

Nelle analisi univariate di regressione di Cox (**Figura 5**), le seguenti variabili sono state associate a mortalità e ospedalizzazione cardiovascolare: età, classe NYHA avanzata, LVEF, BNP, e anemia. Per quanto riguarda il deficit ormonale (HD) specifico, il deficit di testosterone (TD) [1,59 (1,25-2,01), $P < 0,001$], il deficit di DHEAS (DHEAS-D) [1,40 (1,07-1,81), $P = 0,011$], il deficit di IGF-1 [1,43 (1,13-1,82), $P = 0,003$], e l'aumento dell'IR (indice HOMA anormale o T2D) [1,34 (1,03-1,73), $P = 0,03$] erano singolarmente associati all'outcome primario. Inoltre, quando l'analisi è stata eseguita separatamente per la presenza di HOMA-IR o diabete, solo il T2D è stato associato all'endpoint primario [1,55 (1,20-2,01), $P < 0,001$], mentre l'HOMA-IR da solo non ha mostrato un aumento del rischio di mortalità o di ospedalizzazione cardiovascolare [0,94 (0.74-1.2), $P < 0.064$]. Il numero di HD [1,35 (1,21-1,52), $P < 0,001$] così come la presenza di MHDS [2,09 (1,52-2.88), $P < 0,001$] erano associati all'outcome primario. In particolare, la presenza di MHDS ha identificato un gruppo di pazienti con una maggiore mortalità [2.2 (1.28-3.83), $P = 0.01$] e ospedalizzazione cardiovascolare [1.81 (1.29-2.54), $P = 0.001$] (**Figura 4B e 4**). Dopo esclusione dei pazienti diabetici, la MHDS era ancora associata con un aumentato rischio di raggiungere l'endpoint primario [HR 2.15 (1.49-3.09), $P < 0.01$], così come quando abbiamo eseguito l'analisi solo in pazienti T2D ($n = 120$) [HR 1,87 (1,15-3,05), $P < 0,01$].

L'analisi Kaplan-Meier eseguita in base al numero di HD ha mostrato che i pazienti senza HD avevano il miglior tasso di sopravvivenza rispetto a quelli con

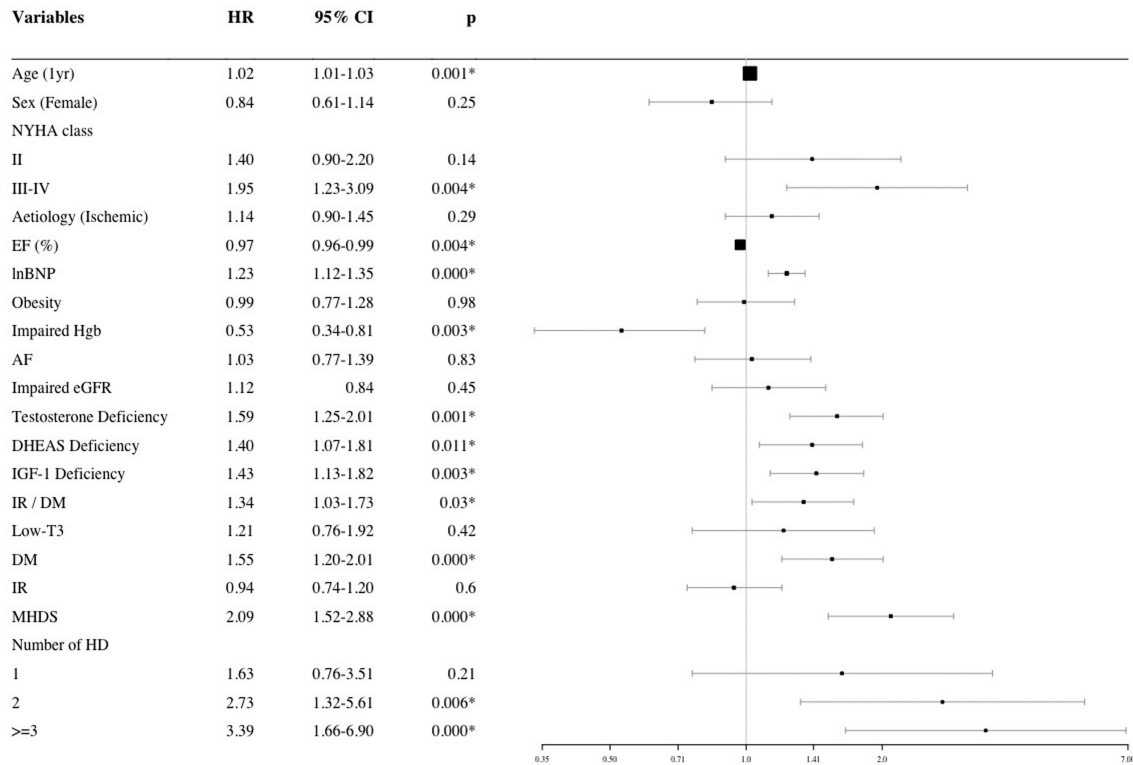
1, 2 e ≥ 3 HD, con una relazione progressiva tra il tasso di eventi e il numero di HD (**Figura 6**). Risultati analoghi sono stati ottenuti quando i pazienti diabetici sono stati esclusi dall'analisi: la presenza di un numero crescente di HD è stata associata a un aumentato rischio mortalità o ospedalizzazione [1 HD: HR 1,43 (0,65-3,13), $P = 0,37$; 2 HD: HR 2,53 (1,22-5,27), $P < 0,01$; HDR 3.08 (1.49–6.38), $P < 0.002$].

Figura 4 Analisi di Kaplan–Meier per outcome di mortalità per tutte le cause e ospedalizzazioni



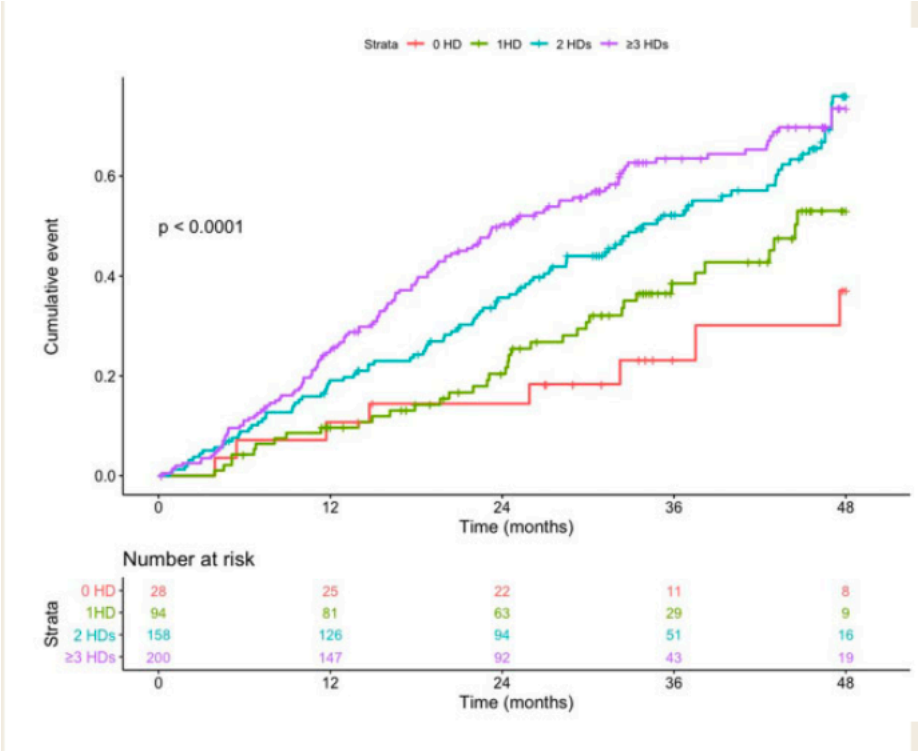
Occurrence of the primary endpoint in patients with MHDS. Kaplan–Meier analysis of composite of all-cause mortality and cardiovascular hospitalizations (A), all-cause mortality (B), and cardiovascular hospitalization (C), in patients with one or no hormonal deficiencies (NO-MHDS, $n = 122$) vs. patients with two or more hormonal deficiencies (MHDS, $n = 358$).

Figure 5. Single predictor models of Cox proportional hazard analysis. Forest plot of univariate Cox proportional hazard regression analyses of the effect several variables on the primary endpoint



(composite of all-cause mortality or cardiovascular hospitalization evaluated in the entire population $n = 480$)

Figura 6. Curve di Kaplan Meier per endpoint primario in sottogruppi di pazienti con crescente numero di HD

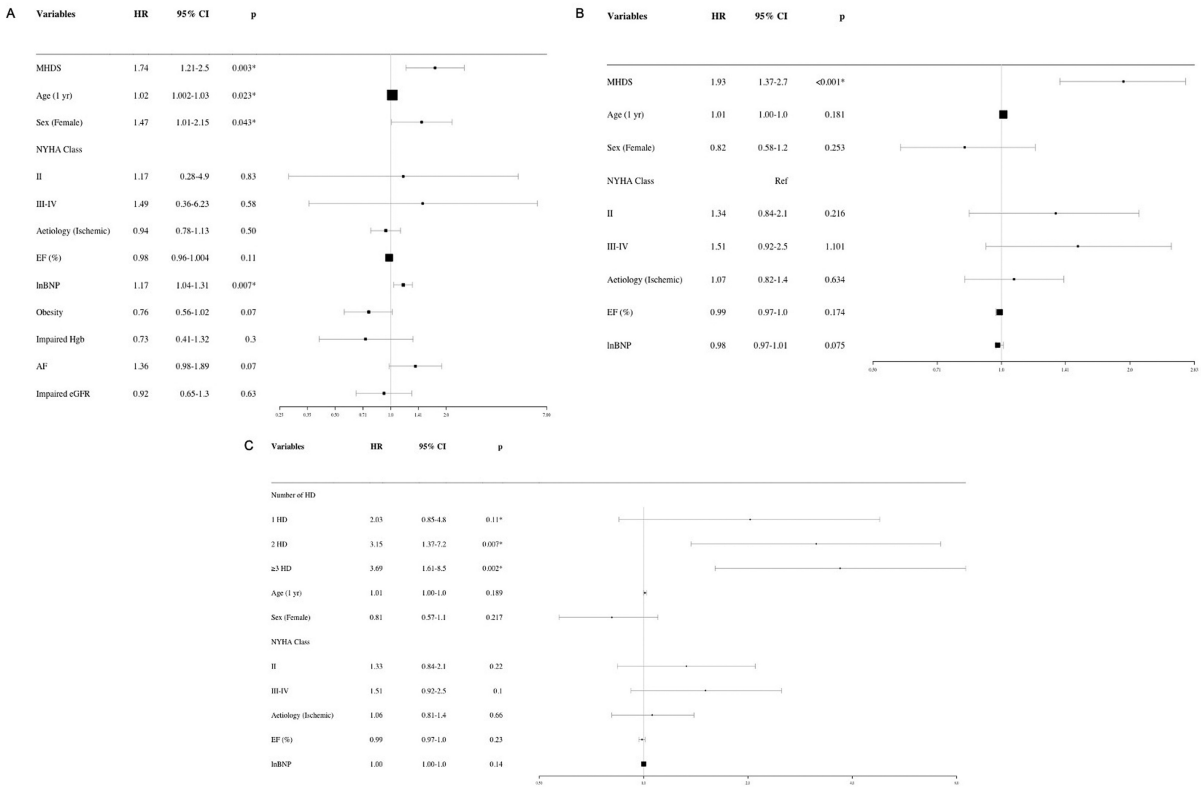


Occurrence of the primary endpoint according to the number of hormonal deficiencies. Kaplan–Meier analysis of survival for all-cause mortality or cardiovascular hospitalization in patients with 0 (n = 28), 1 (n = 94), 2 (n = 158), three, or more than 4 (n = 200) hormonal deficiencies

Analisi multivariate

Nelle analisi di regressione multivariata di Cox per il Modello 1 (**Figura 7A**), la presenza di MHDS era significativamente associata all'endpoint primario dopo aggiustamento per età, sesso, classe NYHA, eziologia, LVEF, BNP, presenza di obesità, alterato eGFR, fibrillazione atriale e anemia [1,74 (1,21-2,5), $P = 0,003$]. In questo modello, anche il sesso [1,47 (1,01-2,15), $P = 0,045$], l'età [1,02 (1,00-1,03), $P = 0,023$] e il BNP [1,17 (1,04-1,31), $P = 0,007$] erano significativamente associati all'outcome. Nelle analisi multivariate. Nell'analisi di regressione secondo Cox per il modello 2 (**Figura 7B**), la presenza di MHDS era significativamente associata all'endpoint primario quando aggiustata per età, sesso, classe NYHA, eziologia, LVEF e BNP [1,93 (1,37-2,73), $P < 0,001$]. Quando i pazienti T2D sono stati esclusi, MHDS è rimasto fortemente e significativamente associato all'endpoint primario [1,95 (1,31-2,90), $P < 0,001$]. La presenza di T2D era anche significativamente associata all'endpoint primario quando aggiustata per età, sesso, classe NYHA, eziologia, LVEF e BNP [1,4 (1,05-1,85), $P = 0,02$].

Figura 7 Multivariable models of Cox proportional hazard analysis. Adjusted hazard ratios for outcome according to the presence of MHDS.



(A) full model, simplified model (B), or the number of hormonal deficiencies with simplified model (C). AF, atrial fibrillation; Anaemia defined as Hgb < 10 mg/dL; BNP, B-type natriuretic peptide; EF, ejection Fraction; Impaired eGFR defined as creatinine clearance <60 mL/min; MHDS, multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome; NYHA, New York Heart Association; Obesity defined as BMI > 30 g/m².

Prognosi legata alla specifica HD e al numero di HD

Per quanto riguarda il modello 3 (**Figura 7C**), il numero di HD rilevato era significativamente associato all'outcome anche quando aggiustato per età, sesso, classe NYHA, eziologia, LVEF e BNP [1,28 (1,13-1,43), P < 0,001]. Quando i pazienti diabetici sono stati esclusi, la presenza di un numero crescente di HD rimaneva associata a un aumento del rischio di outcome primario [1 HD: HR

1,72 (0,71-4,22), $P = 0,23$; 2 HD: HR 2,85 (1,23-6,62), $P < 0,01$; HD ≥ 3 : HR 3,1 (1,33-7,23), $P < 0,01$].

E' stata studiata l'associazione tra la presenza di una singola HD specifica al basale e gli outcome di interesse. Le analisi di Kaplan-Meier sono state disegnate considerando la presenza della singola HD (TD, DHEA-S D, basso IGF-1, HOMA-IR, T2D e *low T3*) per l'endpoint composito dall'arruolamento.

La presenza di TD, DHEAS-D, IGF-1 basso, o T2D, erano indipendentemente associati all'outcome ($P < 0,001$, $P = 0,005$, $P < 0,001$, e $P < 0,001$, rispettivamente). I pazienti senza HD hanno avuto il miglior tasso di sopravvivenza rispetto a quelli con HD. Non sono state trovate interazioni tra i cinque HD considerati, suggerendo un ruolo simile di ogni HD nel determinare l'endpoint primario.

DISCUSSIONE

Il registro T.O.S.CA. rappresenta il più ampio e robusto studio osservazionale riguardante la prevalenza e gli effetti della MHDS nella ICC.

Nel presente studio, il primo registro prospettico specificamente progettato per indagare il ruolo svolto da HD e IR sulla prognosi e la sopravvivenza del paziente con insufficienza cardiaca con frazione di eiezione ridotta, abbiamo documentato diversi risultati nuovi: (1) la prevalenza di HD nell'insufficienza cardiaca è molto

alta, superiore al 90%. In particolare, più di due terzi dei pazienti sono caratterizzati da due o più HD concomitanti, (2) la presenza di MHDS identifica un gruppo di pazienti a maggior rischio di mortalità o di ospedalizzazione cardiovascolare; (3) esiste una relazione graduata tra il numero di HD e gli eventi totali, suggerendo un possibile ruolo causale di MHDS nell'ICC e (4) la T2D, ma non l'IR, esercita un ruolo negativo sulla sopravvivenza e la prognosi dell'ICC.

Deficit ormonali ed insufficienza cardiaca

Negli ultimi anni si è sviluppato il nuovo concetto per il quale la progressione dell'insufficienza cardiaca è associata sia all'iperattività dei sistemi adrenergici/renina-angiotensina-aldosterone/citochine sia alla *down-regulation/impairment* di alcuni sistemi ormonali. Tale modello fisiopatologico deriva da diversi studi indipendenti che documentano che gli HD isolati sono associati alla compromissione dello stato clinico e della performance fisica oltre che con una scarsa sopravvivenza^{4, 5}. Tuttavia, i dati disponibili nella letteratura sono frammentari, venendo a mancare una visione globale del fenomeno. Inoltre, anche quando gli effetti della combinazione di vari HD sono stati studiati in coorti più piccole, la IR o il diabete sono stati trascurati⁵. Il registro T.O.S.CA. supera questa limitazione, aggiungendo una preziosa informazione sull'argomento, in vista del ruolo ancora più emergente della IR o del diabete come attori rilevanti nella patogenesi della ICC⁴⁷.

Il registro T.O.S.CA. mostra che più del 90% dei pazienti con ICC hanno almeno una HD. Coerentemente con i risultati precedenti, la presenza di TD, DHEAS-D o deficit di IGF-1 sono stati indipendentemente associati a una prognosi negativa. In particolare, il ruolo svolto da ogni componente dell'asse somatotropo (IGF-1 e GH) è stato ampiamente studiato negli ultimi 20 anni, con diversi gruppi indipendenti che riportano livelli circolanti di IGF-1 più bassi associati a peggiori dati di outcome¹¹. Il deficit di GH è anche associato a un peggior stato clinico, rimodellamento ventricolare sinistro, disfunzione ventricolare destra e aumento della mortalità¹³. Allo stesso modo, la TD è associata a una significativa compromissione della funzione muscolare scheletrica e della capacità di esercizio⁴⁸⁻⁴⁹, nonché a una disregolazione dei profili metabolici, con aumento del rischio di sindrome metabolica e nuova insorgenza di T2D. Allo stesso modo, la sindrome da T3 basso è stata associata a peggiori prestazioni cardiovascolari e ad un aumento della mortalità nell'insufficienza cardiaca²¹. L'IR e la T2D sono state associate alla gravità dell'ICC, come testimoniato dalla riduzione del picco di VO₂ alla prova ergospirometrica⁵⁰

Nello studio attuale, abbiamo inizialmente combinato in un unico gruppo i pazienti con T2D e i pazienti senza T2D ma con IR. Questa coorte, circa i due terzi dell'intera popolazione, era caratterizzata da una maggiore incidenza dell'outcome primario. Tuttavia, quando è stato studiato il gruppo con T2D, escludendo i soggetti con IR senza T2D, è stato evidente l'impatto di questo sull'outcome, confermando le numerose osservazioni presenti in letteratura sul tema⁵¹.

Questo dato suggerisce, anche in considerazione del trattamento attualmente in uso, l'IR non sembra giocare un ruolo rilevante nella progressione dell'insufficienza cardiaca. È interessante notare, a questo proposito, che è stato dimostrato che i farmaci che agiscono sull'insulino-resistenza all'insulina (i glitazoni) non sono efficaci nell'insufficienza cardiaca, mentre i farmaci che non hanno un effetto diretto sulla sensibilità all'insulina ma che hanno un potente effetto sulla iperglicemia (cioè gli inibitori del co-inibitori del trasportatore-2 del sodio) lo sono. Considerando che quasi il 40% dei nostri pazienti presentano IR ma non sono diabetici, chiarire quale sia il ruolo effettivo dell'IR sarebbe molto importante, e necessiterebbe ulteriori analisi.

Nel complesso, il Registro TOSCA ha confermato che gli HD nell'ICC sono associati non solo a un peggiore stato clinico e a una performance fisica compromessa, ma, soprattutto, a una ridotta sopravvivenza nell'ICC, suggerendo ulteriormente il loro ruolo causale nella progressione dell'CHF. I dati attuali non mostrano che un singolo difetto ormonale abbia un effetto predominante sulla morbilità e mortalità rispetto agli altri: eccetto la bassa T3, poco prevalente nella nostra popolazione, le curve di sopravvivenza relative ai singoli ormoni mostrano una divergenza simile nel tempo, indicando il concetto che ogni HD ha un effetto simile sul risultato, mentre la loro aggregazione porta a una prognosi nettamente peggiore. Infatti, secondo l'analisi di interazione eseguita nel nostro lavoro, nessuno degli HD è stato in grado di guidare l'outcome primario.

MHDS nell'insufficienza cardiaca

Il nostro studio ha mostrato che la coesistenza di almeno due HD (quindi MHDS) è molto comune, coinvolgendo circa il 75% dei soggetti; in particolare, la MDHS è fortemente associata a una performance cardiovascolare peggiore e a un aumento del rischio di ospedalizzazione e di morte.

Precedenti risultati preliminari hanno suggerito che la coesistenza di HD ha un'alta prevalenza tra i pazienti con CHF e potrebbe avere un impatto sulla sua prognosi⁵. In particolare, in una coorte di 208 pazienti maschi con ICC, è stato dimostrato che la coesistenza di almeno due HD, tra bassi livelli di IGF-1, testosterone totale, o DHEA-S (circa il 50% della popolazione) era associato a una ridotta sopravvivenza⁵. Più recentemente, in 107 pazienti maschi, è stata descritta una MHDS in circa il 30% della popolazione, con un'associazione tra il numero di HD e la mortalità⁶. Infine, in una piccola coorte di 72 pazienti maschi, è stata riscontrata una prevalenza di MHDS in circa il 60% della popolazione, con una prevalenza inferiore (circa il 40%) nell'insufficienza cardiaca con frazione di eiezione conservata⁷.

In questo studio siamo andati oltre questi risultati, in quanto abbiamo studiato un più completo completo di ormoni, considerando anche l'impatto delle alterazioni tiroidee e della IR/T2D. Nel presente studio, dimostriamo per la prima volta, che la MHDS ha un effetto indipendente e forte sulla mortalità e sulla ospedalizzazione cardiovascolare in pazienti con ICC.

Un ulteriore punto di forza dello studio è che i pazienti di sesso femminile rappresentano circa il 20% della coorte studiata, mentre nei precedenti studi sull'argomento il sesso femminile è stato escluso. Questo è di estrema importanza, data la bassa rappresentazione delle donne negli studi clinici che coinvolgono i pazienti con insufficienza cardiaca e la necessità insoddisfatta di caratterizzare meglio le pazienti di sesso femminile portatrici di questa condizione clinica.

Limitazioni dello studio

Il nostro studio è di tipo osservazionale. Pertanto, lo studio non è stato disegnato per chiarire il possibile meccanismo biologico dell'HD nella ICC. Tuttavia, gli studi osservazionali sono appropriati per descrivere la storia naturale di una malattia e per generare o confermare nuove ipotesi fisiopatologiche. Si precisa inoltre che, anche se i valori di cut-off per definire la presenza di HD possono essere considerati in parte arbitrari, i cut off per definire le HD sono stati scelti in accordo con la letteratura preesistente sull'argomento e, quando disponibili, secondo le linee guida vigenti.

IV. BIBLIOGRAFIA

- 1 McDonagh TA. et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European heart journal*, doi: 10.1093/eurheartj/ehab368
- 2 Braunwald, E. Heart failure. *JACC Heart Fail* **1**, 1-20, doi:10.1016/j.jchf.2012.10.002 (2013).
- 3 Pagan, J., Seto, T., Pagano, M. & Cittadini, A. Role of the ubiquitin proteasome system in the heart. *Circ Res* **112**, 1046-1058, doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.300521 (2013).
- 4 Sacca, L. Heart failure as a multiple hormonal deficiency syndrome. *Circ Heart Fail* **2**, 151-156, doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.821892 (2009).
- 5 Jankowska, E. A. et al. Anabolic deficiency in men with chronic heart failure: prevalence and detrimental impact on survival. *Circulation* **114**, 1829-1837, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.649426 (2006).
- 6 Arcopinto, M. et al. Multiple hormone deficiencies in chronic heart failure. *Int J Cardiol* **184**, 421-423, doi:10.1016/j.ijcard.2015.02.055 (2015).
- 7 Salzano, A. et al. Multiple hormone deficiency syndrome in heart failure with preserved ejection fraction. *International journal of cardiology* **225**, 1-3, doi:10.1016/j.ijcard.2016.09.085 (2016).
- 8 Arcopinto, M. et al. The Tosca Registry: An Ongoing, Observational, Multicenter Registry for Chronic Heart Failure. *Transl Med UniSa* **14**, 21-27 (2016).
- 9 Suskin, N. et al. Glucose and insulin abnormalities relate to functional capacity in patients with congestive heart failure. *European heart journal* **21**, 1368-1375, doi:10.1053/ehj.1999.2043 (2000).
- 10 Bossone, E. et al. The T.O.S.C.A. Project: research, education and care. *Monaldi archives for chest disease = Archivio Monaldi per le malattie del torace / Fondazione clinica del lavoro, IRCCS [and] Istituto di clinica fisiologica e malattie apparato respiratorio, Università di Napoli, Secondo ateneo* **76**, 198-203 (2011).
- 11 Arcopinto, M. et al. IGF-1 predicts survival in chronic heart failure. Insights from the T.O.S.C.A. (Trattamento Ormonale Nello Scompenso Cardiaco) registry. *Int J Cardiol* **176**, 1006-1008, doi:10.1016/j.ijcard.2014.07.003 (2014).

- 12 Arcopinto, M. et al. The GH/IGF-1 axis in chronic heart failure. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* **13**, 76-91 (2013).
- 13 Arcopinto, M. et al. Growth Hormone Deficiency Is Associated with Worse Cardiac Function, Physical Performance, and Outcome in Chronic Heart Failure: Insights from the T.O.S.C.A. GHD Study. *PLoS One* **12**, e0170058, doi:10.1371/journal.pone.0170058 (2017).
- 14 Marra, A. M. et al. Growth Hormone as Biomarker in Heart Failure. *Heart Fail Clin* **14**, 65-74, doi:10.1016/j.hfc.2017.08.008 (2018).
- 15 Cittadini, A. et al. Growth hormone replacement delays the progression of chronic heart failure combined with growth hormone deficiency: an extension of a randomized controlled single-blind study. *JACC Heart Fail* **1**, 325-330, doi:10.1016/j.jchf.2013.04.003 (2013).
- 16 Cittadini, A. et al. Growth hormone deficiency in patients with chronic heart failure and beneficial effects of its correction. *J Clin Endocrinol Metab* **94**, 3329-3336, doi:10.1210/jc.2009-0533 (2009).
- 17 Petretta, M. et al. NT-proBNP, IGF-I and survival in patients with chronic heart failure. *Growth Horm IGF Res* **17**, 288-296, doi:10.1016/j.ghir.2007.01.020 (2007).
- 18 Niebauer, J. et al. Deficient insulin-like growth factor I in chronic heart failure predicts altered body composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation. *Journal of the American College of Cardiology* **32**, 393-397 (1998).
- 19 Marra, A. M. et al. Detectable interleukin-9 plasma levels are associated with impaired cardiopulmonary functional capacity and all-cause mortality in patients with chronic heart failure. *International journal of cardiology* **209**, 114-117, doi:10.1016/j.ijcard.2016.02.017 (2016).
- 20 Opasich, C. et al. Sick euthyroid syndrome in patients with moderate-to-severe chronic heart failure. *Eur Heart J* **17**, 1860-1866 (1996).
- 21 Iervasi, G. et al. Low-T3 syndrome: a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease. *Circulation* **107**, 708-713 (2003).
- 22 Pingitore, A. & Iervasi, G. Thyroid (dys)function in heart failure: is it a potential target for medical treatment? *Vasc Health Risk Manag* **1**, 97-100 (2005).
- 23 Caminiti, G. et al. Effect of long-acting testosterone treatment on functional exercise capacity, skeletal muscle performance, insulin resistance, and baroreflex sensitivity in elderly patients with chronic heart failure a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Am Coll Cardiol* **54**, 919-927, doi:10.1016/j.jacc.2009.04.078 (2009).

- 24 Iellamo, F. et al. Testosterone therapy in women with chronic heart failure: a pilot double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Journal of the American College of Cardiology* **56**, 1310-1316, doi:10.1016/j.jacc.2010.03.090 (2010).
- 25 Arcopinto, M., Salzano, A., Isgaard, J. & Cittadini, A. Hormone replacement therapy in heart failure. *Curr Opin Cardiol* **30**, 277-284, doi:10.1097/HCO.000000000000166 (2015).
- 26 Doehner, W. et al. Impaired insulin sensitivity as an independent risk factor for mortality in patients with stable chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* **46**, 1019-1026, doi:10.1016/j.jacc.2005.02.093 (2005).
- 27 Wong, A. K. et al. The effect of metformin on insulin resistance and exercise parameters in patients with heart failure. *European journal of heart failure* **14**, 1303-1310, doi:10.1093/eurjhf/hfs106 (2012).
- 28 Cittadini, A. et al. Metformin prevents the development of chronic heart failure in the SHHF rat model. *Diabetes* **61**, 944-953, doi:10.2337/db11-1132 (2012).
- 29 Bossone, E. et al. Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome in chronic heart failure: rationale, design, and demographic characteristics of the T.O.S.CA. Registry. *Intern Emerg Med*, doi:10.1007/s11739-018-1844-8 (2018).
- 30 McDonagh TA. et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European heart journal*, doi: 10.1093/eurheartj/ehab368
- 31 Yancy, C. W. et al. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *Journal of the American College of Cardiology* **70**, 776-803, doi:10.1016/j.jacc.2017.04.025 (2017).
- 32 in Chronic Heart Failure: National Clinical Guideline for Diagnosis and Management in Primary and Secondary Care: Partial Update National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance (2010).
- 33 Ouwerkerk, W., Voors, A. A. & Zwinderman, A. H. Factors influencing the predictive power of models for predicting mortality and/or heart failure hospitalization in patients with heart failure. *JACC Heart Fail* **2**, 429-436, doi:10.1016/j.jchf.2014.04.006 (2014).
- 34 Yancy, C. W. et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American

- Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology* **62**, e147-239, doi:10.1016/j.jacc.2013.05.019 (2013).
- 35 Mosterd, A. & Hoes, A. W. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart* **93**, 1137-1146, doi:10.1136/hrt.2003.025270 (2007).
 - 36 Bleumink, G. S. et al. Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study. *European heart journal* **25**, 1614-1619, doi:10.1016/j.ehj.2004.06.038 (2004).
 - 37 Owan, T. E. et al. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *The New England journal of medicine* **355**, 251-259, doi:10.1056/NEJMoa052256 (2006).
 - 38 Meta-analysis Global Group in Chronic Heart, F. The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis. *European heart journal* **33**, 1750-1757, doi:10.1093/eurheartj/ehr254 (2012).
 - 39 Pocock, S. J. et al. Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies. *European heart journal* **34**, 1404-1413, doi:10.1093/eurheartj/ehs337 (2013).
 - 40 Rogers, J. K. et al. Analysing recurrent hospitalizations in heart failure: a review of statistical methodology, with application to CHARM-Preserved. *European journal of heart failure* **16**, 33-40, doi:10.1002/ejhf.29 (2014).
 - 41 Mann, D. L. Mechanisms and models in heart failure: A combinatorial approach. *Circulation* **100**, 999-1008 (1999).
 - 42 Hartupee, J. & Mann, D. L. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nature reviews. Cardiology* **14**, 30-38, doi:10.1038/nrcardio.2016.163 (2017).
 - 43 Meta-analysis Global Group in Chronic Heart F (2012) The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta- analysis. *Eur Heart J* **33**:1750– 1757
 - 44 Plesner LL, et al (2017) The prognostic significance of lung function in stable heart failure outpatients. *Clin Cardiol* **40**(11):1145–1151.
 45. Tang WH et al (2014) Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol* **64**:1908–1914
 - 46 Bossone E, Arcopinto M, et al. Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome in chronic heart failure: rationale, design, and demographic

- characteristics of the T.O.S.CA. Registry. Intern Emerg Med. 2018 Aug;13(5):661-671.
47. McMurray JJV, et al. DAPA-HF Trial Committees and Investigators. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. N Engl J Med 2019;381:1995–2008.
 48. Pugh PJ, Jones RD, West JN, Jones TH, Channer KS. Testosterone treatment for men with chronic heart failure. Heart 2004;90:446–447.
 49. Malkin CJ, Pugh PJ, West JN, van Beek EJR, Jones TH, Channer KS. Testosterone therapy in men with moderate severity heart failure: a double-blind randomized placebo controlled trial. Eur Heart J 2006;27:57–64.
 50. Swan JW, Anker SD, Walton C, Godsland IF, Clark AL, Leyva F, Stevenson JC, Coats AJS. Insulin resistance in chronic heart failure: Relation to severity and etiology of heart failure. J Am Coll Cardiol 1997;30:527–532.
 51. Chandramouli C et al. on behalf of the ASIAN-HF Investigators. Impact of diabetes and sex in heart failure with reduced ejection fraction patients from the ASIAN-HF registry. Eur J Heart Fail 2019;21:297–307.