

Università degli Studi di Napoli Federico II

Facoltà di Medicina e Chirurgia



Dottorato di Ricerca in

Fisiopatologia Clinica e Medicina Sperimentale

Coordinatore: Prof. Gianni Marone

XXVI Ciclo

Tesi di Dottorato

**RUOLO DEL DEFICIT DI GH/IGF-1 NELLO SCOMPENSO
CARDIACO CRONICO**

RELATORE

Prof. Antonio Cittadini

CANDIDATO

Dott. Francesco Ferrara

ANNO ACCADEMICO 2013 - 2014

INTRODUZIONE

Lo scompenso cardiaco cronico (SCC) rappresenta tutt'oggi un grave problema di salute pubblica che incide in maniera rilevante sulla sopravvivenza e la qualità di vita dei pazienti, comportando elevati costi assistenziali e sociali. Secondo le stime della Società Europea di Cardiologia (ESC) in Europa la prevalenza dello SCC è intorno all'1-2% e aumenta progressivamente con l'aumentare dell'età della popolazione ($\geq 10\%$ dopo i 75 anni di età), rappresentando una delle più frequenti cause di ospedalizzazione (5% del totale dei ricoveri per acuti).¹ Nonostante i recenti progressi delle scienze cardiovascolari la mortalità per SCC risulta essere ancora elevata con stime che arrivano fino al 50% di mortalità dopo 5 anni dalla diagnosi.² Allo stato dell'arte sono stati descritti diversi meccanismi fisiopatologici, ma nessuno di questi riesce singolarmente e in maniera assoluta a chiarire le cause e la progressione di una sindrome così complessa come lo SCC.¹ Lo SCC inizia dopo che un evento acuto determina un danno del muscolo cardiaco, per cui si attivano una serie di meccanismi compensatori a breve termine, incluso il sistema nervoso adrenergico, il sistema renina-angiotensina ed il sistema delle citochine, capaci di preservare la funzione di pompa e la capacità cardiaca entro un range di normalità, per cui il paziente rimane ancora asintomatico.³ Con il passare del tempo l'attivazione sostenuta di tali sistemi "compensatori" determina un danno secondario del muscolo cardiaco con peggioramento del rimodellamento ventricolare sinistro per cui il paziente inizia a presentare i classici segni e sintomi di scompenso cardiaco.³ Tale presupposto è alla base del "modello neuro-ormonale", che ha di fatto superato i vecchi modelli "cardio-renale" ed "emodinamico", ed ha fornito i presupposti fisiopatologici per l'utilizzo dei principali farmaci usati per la cura dello SCC, quali ACE-inibitori, β -bloccanti, antagonisti recettoriali dell'angiotensina e antagonisti dell'aldosterone, che hanno dimostrato di ridurre in maniera significativa la mortalità dei pazienti affetti da

SCC. Tuttavia il modello “neurormonale” ha mostrato alcuni limiti, non riuscendo a spiegare tutti gli aspetti fisiopatologici e la progressione purtroppo ancora sfavorevole dello SCC. Da una parte non è possibile ottenere una completa inibizione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS) e del sistema adrenergico per un effetto dose-limitante dei farmaci. In secondo luogo, esistono pathways metabolici alternativi che non sono antagonizzati con i farmaci convenzionali (ad esempio chinasi miocardiche). Inoltre è possibile che ci esistano altri sistemi ignoti e biologicamente attivi che possono avere un ruolo determinante nella patogenesi e nella progressione dello SCC. Infatti, nella storia naturale della malattia lo SCC può progredire indipendentemente dallo stato neuro-ormonale. Negli ultimi anni la comunità scientifica ha mostrato crescente interesse nei confronti di nuove prospettive fisiopatologiche coinvolgenti il sistema “ormonale-metabolico”. A questo proposito è stato descritto che nell’insufficienza cardiaca si verifica uno squilibrio ormonale-metabolico caratterizzato da una predominanza dello stato catabolico sull’impulso anabolico.⁴ Infatti, si osserva comunemente in pazienti affetti da SCC, una perdita precoce e importante di massa muscolare, e la presenza di un peso corporeo maggiore si associa ad una prognosi migliore.⁵ L’esempio clinico classico è rappresentato dall’ultimo stadio dell’insufficienza cardiaca, noto come “cachessia cardiaca”, caratterizzata da perdita di peso, in particolare di massa magra, rapido deterioramento delle condizioni cliniche generali, e causato da una prevalenza di fenomeni catabolici sugli impulsi anabolici.⁶ Gli assi ormonali più coinvolti includono l’ormone della crescita (GH) e l’effettore tissutale insulinosimile (IGF-1), gli ormoni tiroidei, l’insulina e gli steroidi anabolizzanti.⁴ Nonostante il crescente interesse volto a identificare i meccanismi che sottendono l’associazione tra sistema endocrino e cuore, restano ancora dei quesiti insoluti: l’esatta prevalenza dei difetti ormono-metabolici nello SCC; i criteri diagnostici di questi difetti; l’impatto degli stessi su progressione e prognosi dello SCC. I risultati di un buon numero di sperimentazioni precliniche e cliniche consentono di ritenere

che l'ormone GH ed il suo effettore tissutale IGF-1 siano regolatori fisiologici della crescita miocardica e della funzione cardiaca.⁷ La prima evidenza che testimoniava un ruolo chiave di tale asse ormonale ci proviene da uno studio prospettico danese del 2002 condotto su un campione di circa 4000 individui sani nei quali bassi valori di IGF-1 si associavano ad un aumentato rischio di cardiopatia ischemica.⁸ D'altronde è noto da tempo come la mortalità cardiovascolari sia più alta nei pazienti con ipopituitarismo.⁹ Nello specifico, da dati emersi dal celebre Framingham Heart Study bassi valori di IGF-1 nei pazienti anziani sani si correlavano ad un maggiore rischio di SCC.¹⁰ Inoltre nei pazienti con SCC bassi valori di IGF-1 si associano ad una maggiore attivazione neuro-ormonale, una riduzione della forza muscolare e della percentuale di fibre muscolari misurata alla TC del quadricipite femorale.¹¹ Pazienti adulti con deficit di GH sono esposti ad un aumentato rischio di eventi cardiovascolari su base aterosclerotica, in seguito ai quali è stato osservato un aumento della mortalità.⁵ Si è reso evidente in questi pazienti, infatti, un pattern compatibile con i meccanismi patogenetici dell'aumentato rischio cardiovascolare caratterizzato da incremento dei livelli plasmatici di colesterolo-LDL, dei trigliceridi ed da una importante riduzione del colesterolo-HDL.⁶ Oltre ai danni mediati dalle dislipidemie, il deficit di GH determina anche un danno morfo-funzionale diretto sul miocardio che può regredire con la somministrazione di GH.^{12,13} In una considerevole percentuale di pazienti affetti da SCC si rileva un ampio spettro di alterazioni dell'asse GH/IGF-1, che vanno dalla riduzione dei livelli di GH circolante fino ad una condizione di severa resistenza all'ormone, caratterizzata da elevata concentrazione di somatotropina e dalla contemporanea riduzione dei livelli di IGF-1.⁴ Quest'ultima condizione rappresenta una caratteristica dei pazienti con cachessia cardiaca.^{14,15} Esperienze preliminari riguardanti lo screening della popolazione affetta da SCC (attraverso i dosaggi di GH e IGF-1 basali, e un test di stimolo con GHRH e Arginina), riportano un'alta prevalenza del deficit di GH nel 40% circa di pazienti scompensati,

potenzialmente associata ad un fenotipo svantaggioso.^{7,12} Questo sarebbe coerente con alcune osservazioni sperimentali ed epidemiologiche, riguardanti la relazione tra livelli di GH/IGF-1 e rimodellamento svantaggioso.¹⁶ A tale scopo il nostro gruppo si è fatto promotore di un innovativo progetto multicentrico di ricerca, denominato “T.O.S.CA. project” (Terapia Ormonale nello Scompenso CArdiaco).¹⁷ Tra i molteplici obiettivi del progetto T.O.S.CA., in questi 3 anni di dottorato la mia attività sperimentale si è focalizzata su due differenti protocolli di studio clinici:

- 1) Studio osservazionale trasversale volto a definire la prevalenza del deficit di GH/IGF-1 in pazienti affetti da SCC e valutare se il deficit di GH può peggiorare l'architettura, la funzione cardiaca e la performance cardiopolmonare.
- 2) Studio prospettico a lungo termine di sopravvivenza avente come obiettivo la valutazione del possibile impatto prognostico del deficit di GH/IGF-1 in pazienti affetti da SCC.

PAZIENTI E METODI

Il progetto T.O.S.CA. è stato articolato in due differenti protocolli di ricerca di cui uno studio osservazionale trasversale e uno studio di sopravvivenza. Nello studio osservazionale trasversale sono stati arruolati 188 pazienti di entrambi i sessi e di età superiore ai 18 anni con diagnosi di SCC, secondo le attuali Linee Guida ESC,¹ con ridotta funzione sistolica del ventricolo sinistro (F.E. \leq 40%; classe NYHA I-III) dopo opportuno consenso informato. Nello studio di sopravvivenza sono stati valutati 207 pazienti affetti da SCC utilizzando gli stessi criteri metodologici di inclusione/esclusione. I pazienti arruolati durante un ricovero ospedaliero per riacutizzazione di scompenso cardiaco sono stati inseriti nello studio dopo 3 mesi di follow-up, in una condizione di stabilità clinica ed emodinamica dopo ottimizzazione della terapia medica. Sono stati esclusi i pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica, miocardite o endocardite infettiva in fase attiva, insufficienza renale in trattamento dialitico, insufficienza epatica (stadio Child B-C), malattia neoplastica e malattie autoimmuni in fase attiva, recente evento coronarico acuto nei 6 mesi precedenti. Inoltre, sono stati esclusi dai test ormonali i pazienti in classe NYHA IV per possibile co-esistenza di resistenza periferica al GH e per evitare che i dati fossero falsati. Per ogni singolo paziente sono stati raccolti i seguenti dati ed eseguite le seguenti indagini diagnostiche:

- a) anamnesi fisiologica e patologica del paziente (compresa la valutazione clinica della classe NYHA di appartenenza)
- b) principali variabili antropometriche (peso, altezza, BMI, circonferenza addominale), in condizioni di stabilità clinica, dati bioimpedenzometrici
- c) terapia farmacologica del paziente

- d) profilo ematochimico completo come raccomandato dalle linee guida E.S.C. con dosaggio della frazione N-terminale del BNP (NT-proBNP)
- e) esame elettrocardiografico
- f) Valutazione della qualità di vita tramite il Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire (MLWHFQ)
- g) ECG dinamico delle 24h secondo Holter
- h) Esame ecocardiografico
- i) Test cardiopolmonare (CPET) con valutazione della VO₂-max e della VE/VCO₂ Slope

I pazienti sono stati regolarmente seguiti nei vari ambulatori dello studio multicentrico tra cui l'U.O. di Cardiologia del P.O. di Cava de'Tirreni-Costa d'Amalfi, Azienda Ospedaliera Universitaria di Salerno, diretta dal Prof. Dott. Eduardo Bossone, dove svolgo attività clinica assistenziale in qualità di Dirigente Medico di I livello. Tutti i decessi e/o gli eventi clinici e le ospedalizzazioni sono stati confermati dopo opportuni contatti telefonici e/o visite di controllo. Entrambi gli studi precedentemente citati sono stati approvati dal comitato etico dell'Università Federico II di Napoli. Il follow-up dello studio di sopravvivenza è durato in media circa 3.5 anni (range 1-72 mesi) e sono stati purtroppo persi i dati di follow-up di circa 17 pazienti (8.2%).

L'obiettivo dello studio osservazionale trasversale è stato di definire la prevalenza del deficit di GH/IGF-1 in pazienti affetti da SCC e valutare se il deficit di GH può peggiorare l'architettura, la funzione cardiaca e la performance cardiopolmonare. L'obiettivo dello studio di sopravvivenza, in un periodo di follow-up durato in media 3.5 anni, è stato invece di

valutare il possibile impatto prognostico del deficit di GH riguardo l'endpoint primario di mortalità per tutte le cause, eventi acuti, ed evolutività clinico-funzionale.

Dosaggi ormonali

Per quanto riguarda la valutazione dell'assetto ormonale-metabolico nello SCC, sono stati misurati i livelli basali sierici di IGF-1 e dell'IGF Binding Protein-3 (IGFBP-3) presso un unico centro di riferimento (core lab) per assicurare la precisione e l'accuratezza delle misurazioni. L'attività periferica dell'IGF-1 è stata stimata come il rapporto molare dei livelli sierici IGF-1/IGFBP-3 (IGF-1mr) ed è stata calcolata moltiplicando il rapporto IGF-1/IGFBP-3 per 3.7 come in precedenza riportato.¹²

Test di stimolo del GH

Il test di stimolo del GH è stato praticato soltanto in 130 pazienti (69%) della nostra popolazione di 188 pazienti affetti da SCC totali dello studio osservazionale trasversale per difficoltà oggettive legate alla metodica (richiede l'immobilizzazione a letto del paziente per circa 3 ore) e per la mancanza di un supporto specialistico endocrinologico in alcuni centri periferici dello studio multicentrico. Il deficit di GH (GHD) è stato definito secondo le attuali Linee Guida in Italia dell'Istituto Superiore di Sanità, utilizzando un test di stimolo del GH.¹⁸ Nello specifico utilizzando la nota 39 del Ministero Italiano della Salute, il GHD nell'adulto è stato diagnostico se il picco dei livelli circolanti di GH risultavano essere $< 3 \mu\text{g/L}$ in seguito a test di tolleranza con insulina, o $< 9 \mu\text{g/L}$ dopo test di stimolo dell'ormone di rilascio della somatotropina (GHRH) + arginina. Siccome il test di tolleranza all'insulina non può essere utilizzato per effetti collaterali in pazienti anziani affetti da malattie cardiache, è stato utilizzato il test di stimolo GHRH + arginina.¹⁸ Secondo precedenti studi¹⁹ la risposta del GH dopo test di stimolo GHRH + arginina è stata classificata in 3 classi differenti di deficit del GH: GHD severo (picco di GH $< 9 \mu\text{g/L}$), GHD parziale (picco di GH tra 9 e $16.5 \mu\text{g/L}$),

normali valori di GH (picco di GH > 16.5 µg/L). Sono stati misurati inoltre i livelli basali di IGF-1 e IGFBP-3 in 156 soggetti di controllo “matched” per sesso, età e BMI.

Test cardiopolmonare (CPET)

E' stato eseguito il CPET mediante cicloergometro con protocollo scalare di esercizio fisico fino ad esaurimento muscolare. Alcuni pazienti non hanno eseguito il CPET per limitazioni muscolo-scheletriche (n=17), deficit neurologici (n=11), incapacità ad eseguire uno stress test con cicloergometro (n=9) o per ragioni tecniche (n=5). In tutti i pazienti dopo 1 minuto di inizio e ambientamento, un protocollo incrementale di 10W/min è stato condotto fino ad esaurimento muscolare o altre indicazioni di interruzione del test.²⁰ Sono state effettuate misurazioni dei gas di scambio attraverso l'uso di un sistema commerciale disponibile. Il picco di VO₂ è stato ottenuto dal valore medio di VO₂ durante gli ultimi 20 secondi del test. La soglia anaerobica respiratoria è stata misurata attraverso l'utilizzo del metodo V-slope. Il rapporto VE/VCO₂ è stato misurato attraverso il plotting della ventilazione versus la produzione di biossido di carbonio (VCO₂), ottenuta ogni 10 secondi di esercizio (VE/VCO₂ slope). Il rapporto VE/VCO₂ slope è stato calcolato come funzione di regressione lineare, escludendo la relazione non lineare dopo l'inizio dell'impulso acidotico alla ventilazione.²⁰

Ecocardiografia

Un esame ecocardiografico completo è stato condotto in tutti i pazienti arruolati secondo le raccomandazioni della Società Americana di Ecocardiografia (ASE).²¹ Un sistema ecocardiografico (Aplio XG imaging system, Toshiba, Japan) con sonda a multifrequenza di 2.5 MHz, è stato utilizzato per un completo esame mono-dimensionale (M-mode), bi-dimensionale (2D), Doppler e Doppler tissutale (DTI). Le registrazioni sono state effettuate in corso di registrazione ecg-grafica nelle proiezioni convenzionali e standard parasternale asse lungo e asse corto, proiezioni apicali 4, 2 e 3 camere, proiezione sottocostale. I dati

ecocardiografici sono stati registrati per poi eseguire un'analisi off-line in cieco. Le misure sono state ottenute attraverso la media di 3 cicli cardiaci. Le misure M-mode e 2D del ventricolo sinistro (VS) sono state ottenute attraverso le formule standard come descritto in letteratura.²¹ Sono stati misurati i seguenti parametri in fine diastole e sistole: diametro del VS, spessore del setto interventricolare (IVS) e della parete posteriore (PP) del VS. Il volume del VS è stato indicizzato per superficie corporea (BSA). La frazione d'eiezione (F.E.) del VS è stata misurata attraverso il metodo biplano di Simpson, utilizzando la proiezione apicale 4 e 2 camere. Lo stress di parete circonferenziale è stato calcolato attraverso le formule standard. I seguenti parametri di funzione diastolica sono stati misurati come media di tre battiti cardiaci consecutivi: la velocità di flusso del Doppler pulsato (PW) precoce diastolica dell'onda E, la velocità di flusso PW di fine diastole dell'onda A, il picco di velocità del DTI (E^1) a livello basale del VS. Il volume campione è stato posizionato alla porzione basale del VS a livello della parete laterale e setto nella proiezione apicale 4 camere. Il rapporto E/A ed E/E^1 è stato misurato per valutare la pressione di incuneamento capillare.

Metodi statistici

Studio osservazionale trasversale

Tutte le variabili sono state testate per definire una normale distribuzione utilizzando il test di Kolmogorov-Smirnov. Alcune variabili avevano una distribuzione asimmetrica per cui sono state espresse come mediana e quartili superiori ed inferiori (NT-proBNP, IGF-1 e IGFBP-3). Le altre variabili continue sono state espresse come valori medi \pm deviazione standard (DS). Le variabili categoriali sono state espresse come percentuale. Le variabili cliniche e demografiche con normale distribuzione sono state confrontate nei due gruppi mediante un test t di Student per dati non appaiati con l'assunzione di una varianza diversa. Il test di Mann-Whitney è stato utilizzato per valutare e confrontare le variabili non parametriche nei

due gruppi. La distribuzione del sesso, la prevalenza del diabete e la distribuzione del deficit di GH tra i vari sottogruppi correlati ai valori di IGF-1 sono stati confrontati mediante un test χ^2 . Le correlazioni sono state misurate mediante il coefficiente di Pearson. Un'analisi univariata mediante test ANOVA è stata condotta per valutare l'effetto del deficit di GH (severo, parziale, no deficit) sui parametri funzionali cardiopolmonari misurati mediante CPET e i parametri ecocardiografici di struttura e funzione del VS. Tutte le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software SPSS version 16.0 package (SPSS Inc., Chicago).

Studio di sopravvivenza

Test t di Student, Mann–Whitney U-test e χ^2 test sono stati utilizzati quando richiesti per i calcoli statistici. Le correlazioni sono state calcolate attraverso il coefficiente di Pearson. La dimensione del campione calcolata per l'analisi di sopravvivenza è stata stimata in 154 pazienti considerando un test di ipotesi del 20% di differenza tra i due gruppi (errore di tipo I del 0.05 e potere statistico $(1-\beta)$ a 0.80). Il valore di cut-off ottimale di IGF-1 per predire un outcome avverso è stato calcolato attraverso un'analisi guidata dalla curva ROC (receiver operating characteristic). Curve di Kaplan–Meier e log-rank test sono stati utilizzati per confrontare i tassi di mortalità per tutte le cause nei vari sottogruppi dello studio. L'analisi univariata con modello proportional hazards Cox è stata utilizzata per stabilire l'associazione tra i dati demografici, clinici, variabili biochimiche e la sopravvivenza. Un'analisi multivariata è stata utilizzata per identificare i predittori indipendenti di morte per tutte le cause includendo i parametri che avevano mostrato una significativa associazione con l'outcome nell'analisi univariata. La significatività è stata stabilita al 5%. Tutte le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software SPSS version 16.0 package (SPSS Inc., Chicago).

RISULTATI

Studio osservazionale trasversale

Un totale di 188 pazienti affetti da SCC e 190 controlli “matched” per età sesso e BMI sono stati inclusi nello studio. Parametri clinici, ematochimici e ormonali di entrambe le popolazioni, e parametri ecocardiografici e funzionali cardiopolmonari misurati mediante CPET, sono riportati nella tabella 1. I pazienti affetti da SCC hanno esibito una F.E. del VS media di 32.1 ± 8 e una media di picco di consumo di O₂ di 16.2 ± 6 ml/kg/min. Dei 130 pazienti affetti da SCC in cui è stato praticato il test di stimolo del GH, 42 (32%) avevano un valore di picco di GH <9 µg/L con un valore medio di picco del GH di 4.1 ± 3 µg/L e sono stati classificati come GHD; il picco del GH nei pazienti con GH normale è stato in media di 27.1 ± 2.9 µg/L (Figura 1). I livelli basali di GH erano simili in entrambi i gruppi (1.9 ± 4 vs. 2.0 ± 2 µg/L, $p=.53$). Una correlazione negativa è stata riscontrata tra il picco di GH e l'indice di massa corporea (BMI) ($r=-.28$; $p=.031$), mentre nessuna correlazione è stata trovata tra il picco di GH e l'IGF-1 ($p=.33$). Il BMI ha una influenza sulla secrezione del GH, per cui i cut-offs di risposta del GH al test provocativo di stimolo dovrebbero prendere in considerazione il suo valore. Tuttavia, questo aspetto è particolarmente importante quando il valore del BMI si trova nel range dell'obesità.²² La maggior parte dei nostri pazienti era soltanto in sovrappeso (valore in media del BMI di 27.8 kg/m²). In questo caso il test di stimolo GHRH + arginina permette di diagnosticare il deficit di GH con una buona sensibilità e specificità se la risposta del GH è stabilita al valore di 8 µg/litro, molto simile al valore di 9 µg/litro adottato nel nostro studio. La presenza del deficit di GH ha dimostrato di influenzare in maniera importante la morfologia e la funzione del VS, così come la performance cardiopolmonare. A questo proposito, dopo aver suddiviso la popolazione nei due sottogruppi di GHD e GH normale secondo il cut-off stabilito (Tabella 2), abbiamo riscontrato che il GHD determina un significativo peggioramento dei parametri cardiovascolari rispetto alla

presenza di un GH normale. Nei pazienti con GH normale rispetto a quelli con GHD il volume del VS di fine diastole e fine sistole è stato più piccolo (-28%, $p=.008$ and -24%, $p=.015$, rispettivamente), lo stress di parete del VS di fine diastole è stato più basso (-21%, $p=.003$), il picco di VO_2 è stato più alto (+15%, $p=.001$) e l'efficienza della ventilazione (VE/VCO_2 slope) è stata migliore (-12%, $p=.002$) (Figura 2-3). Inoltre, la disfunzione diastolica del VS è stata peggiore nei pazienti con GHD rispetto ai pazienti con GH normale, come suggerito dai dati di un più alto rapporto E/E' (18.1 ± 2.4 vs 13.6 ± 1.6 , $p < .001$) che suggerisce un aumento delle pressioni di incuneamento capillare. I livelli sierici di NT-proBNP e la F.E. del VS non differivano significativamente tra i due gruppi di confronto. In maniera interessante anche i valori di IGF-1 sono stati simili nei due gruppi. Per ricercare le correlazioni tra il grado di deficit di GH e il peggioramento dei parametri cardiovascolari, la nostra popolazione di SCC è stata suddivisa in 3 gruppi secondo la severità del deficit di GH (no deficit, deficit parziale, deficit severo), come riportato nei metodi, dopo specifico test provocativo di stimolo del GH (Figura 1). Un'analisi univariata ANOVA tra i soggetti è stata condotta per valutare l'effetto del livello di GH sui parametri morfologici e funzionali. Un'analisi univariata ANOVA è stata condotta per confrontare l'effetto dello status del GH sui parametri morfologici e funzionali. La volumetria diastolica e sistolica del VS è stata significativamente differente tra i gruppi suddivisi secondo la classe di severità del GHD ($p = .04$) (Figura 4).

Non sono state riscontrate differenze nei livelli sierici totali di IGF-1 dei pazienti affetti da SCC e dei controlli sani: 136.0 ng/mL (101.0-165.5) vs 130.0 ng/mL (97.3-163.6), $p=.78$. Dall'altra parte invece abbiamo riscontrato più bassi livelli di IGFBP-3 nella popolazione di pazienti affetti da SCC (-11%) rispetto ai controlli, determinando un rapporto molare IGF-1/IGFBP-3 più alto: 138.5 (115.9-154.8) vs 148.0 (130.6-174.6), $p=.003$. Entrambi i gruppi SCC e controlli hanno mostrato una relazione inversa tra i livelli totali di IGF-1 (nessuna

relazione nel rapporto IGF-1/IGFBP-3) e l'età ($p=.043$ and $p=.044$, rispettivamente). Nel gruppo SCC, l'IGF-1 ha dimostrato di essere correlato anche al picco di VO_2 ($r=.25$, $p=.029$) e al picco dell'esercizio fisico ($r=.23$, $p=.049$). Inoltre, l'IGF-1 ha mostrato di essere anche differente nelle diverse classi funzionali NYHA (ANOVA, $p=.023$), dove invece sia l'IGFBP-3 e sia il suo rapporto derivato non hanno mostrato differenze significative (ANOVA, $p=.17$ and $p=.66$ rispettivamente). I valori di IGF-1 non sono risultati essere correlati al BMI o ad altri parametri metabolici (colesterolo totale, glicemia, trigliceridi). Nessuna correlazione è stata trovata con il volume del VS, la F.E. o i livelli di NT-proBNP. Quando la popolazione dello SCC è stata suddivisa nei due gruppi secondo il valore mediano dell'IGF-1 (130 ng/mL) (Tabella 3), una migliore performance cardiopolmonare misurata mediante CPET è stata osservata nel gruppo con valori di IGF-1 più alti. Specificamente nei pazienti con livelli di IGF-1 >130 ng/mL rispetto ai pazienti con valori di IGF-1 <130 ng/mL sono risultati essere significativamente più alti il picco di consumo di ossigeno ($15.2\pm.7$ vs. $17.7\pm.9$, $p=.031$) e il workload dell'esercizio fisico (77.5 ± 4.5 vs. 98.1 ± 8.8 , $p=.023$), e correlati linearmente ad essi (Tabella 3). Questi dati sono stati confermati anche suddividendo la popolazione dello SCC secondo i più bassi valori di riferimento del nostro laboratorio (IGF-1 90 ng/mL), che coincidono con il 20th percentile della popolazione di controlli. Specificamente, il picco di VO_2 è stato di 14.7 ± 1.0 and 18.0 ± 1.0 rispettivamente per valori bassi e normali di IGF-1 ($p=.003$). Come mostrato nella tabella 3 nessuna differenza è stata osservata in termini di prevalenza di pazienti con deficit di GH o nei valori medi di picco di GH nei due sottogruppi. Invece una più alta prevalenza di diabete è stata riscontrata nel gruppo con più bassi livelli di IGF-1 (26.5% vs 19.6%, $p=.02$).

Studio di sopravvivenza

Attraverso un'analisi guidata della curva ROC (receiver operating characteristic) è stato stabilito un valore di cut-off di IGF-1 di 122 ng/mL come potenziale predittore di mortalità,

con una sensibilità del 77% e una specificità del 61% (AUC: 0.69; 95% C.I. 0.59–0.79; $p < 0.0001$). Le caratteristiche cliniche e antropometriche della popolazione dello studio sono riportate nella tabella 4. Nessuna differenza statisticamente significativa riguardo i dati demografici, biochimici e la terapia è stata riscontrata tra i pazienti con bassi o normali livelli sierici di IGF-1 (cut-off stabilito di 122 ng/mL) (Tabella 4). Dall'altra parte nessun valore soglia di IGF-1mr è stato trovato essere significativo per predire l'outcome ed è stato utilizzato un valore di mediana (IGF-1mr = 144).

Durante il follow-up, durato in media 3.5 anni, della popolazione di 190 pazienti disponibile per l'analisi, 55 pazienti (29%) sono deceduti, di cui 41 morti per cause cardiache (27 per scompenso cardiaco, 14 per morte improvvisa) e 14 morti per cause non cardiache. Nello specifico i tassi di mortalità per i livelli di IGF-1 al di sopra o al di sotto del valore di cut-off derivato dall'analisi ROC, sono stati rispettivamente del 13.8% e del 39.3%. Nella figura 5 sono riportate le curve di sopravvivenza di Kaplan–Meier e il log-rank test per confrontare i due gruppi stratificati secondo i valori di cut-off di IGF-1 e del rapporto molare IGF-1mr. I pazienti con bassi livelli di IGF-1 hanno mostrato di avere dati di sopravvivenza peggiore rispetto a quelli con valori più alti (log rank 13.8, $p < 0.0001$). Nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata nel rapporto IGF-1/IGFBP-3 (log rank 1.2, $p = 0.27$) (Figura 5). L'analisi univariata con modello Cox proportional hazard ha evidenziato che i livelli più avanzati di classe NYHA e il diabete mellito risultavano essere predittori di mortalità per tutte le cause nella nostra popolazione. Il risultato dell'analisi multivariata che includeva questi predittori aggiunti ai livelli di IGF-1, ha evidenziato che solo i livelli di IGF-1 erano significativamente e indipendentemente associati con la mortalità per tutte le cause (Hazard ratio = 4.10, 95% C.I. 1.85-9.07, $p = 0.001$) (Tabella 5). La relazione lineare tra i livelli di IGF-1 e i valori di picco della VO₂ è risultata essere in linea con precedenti osservazioni: bassi valori di IGF-1 correlano con una più piccola area trasversale del muscolo

cardiaco e minor forza muscolare,¹¹ così come con una ridotta funzione sistolica del VS.¹⁹ L'analisi aggiustata della sopravvivenza ha indicato che i pazienti affetti da SCC con bassi livelli di IGF-1 (< 122 ng/mL) hanno una prognosi peggiore per quanto riguarda l'outcome primario di mortalità per tutte le cause (Figura 5). Inoltre i livelli di IGF-1 sono risultati essere un fattore predittore indipendente di mortalità all'analisi multivariata ($p = 0.001$) (Tabella 5).

DISCUSSIONE

Studio osservazionale trasversale

Sebbene è noto che il GH e il suo principale effetto tissutale sono essenziali per preservare l'architettura e la funzione cardiaca negli adulti, non è mai stato condotto uno studio accurato sul deficit dell'asse GH/IGF-1 su un'ampia popolazione di pazienti affetti da SCC. In questo studio abbiamo valutato la prevalenza del deficit di GH e IGF-1 e la loro relazione con l'architettura e la funzione del VS e la performance cardiopolmonare. I nostri risultati per la prima volta hanno dimostrato che: 1) Il deficit di GH è comune ed è presente in circa 1/3 di una popolazione di pazienti affetti da SCC, mentre la prevalenza del deficit di IGF-1 è risultata essere del 10% circa; 2) Il GHD non è associato con differenti livelli sierici di IGF-1; 3) Il deficit di GH identifica un sottogruppo di pazienti affetti da SCC caratterizzati da un peggiore fenotipo clinico, da alterazioni della morfologia e funzione del VS e da una ridotta performance cardiopolmonare, rispetto ai pazienti con normale attività dell'asse GH/IGF-1, mentre il deficit isolato di IGF-1 ha un minore impatto su queste variabili.

L'architettura e la funzione del VS nello SCC è risultata essere più compromessa in presenza di deficit di GH. In particolare i pazienti con concomitante GHD e SCC, rispetto ai pazienti con normali livelli di GH, hanno mostrato avere una maggiore volumetria e dilatazione del VS con più elevati indici di stress parietali e incremento dei valori di pressione di incuneamento capillare stimata mediante il rapporto E/E^1 . Invece non è stata riscontrata una maggiore riduzione della F.E. del VS nella popolazione di pazienti affetti da SCC e GHD, probabilmente perché l'elevato stress di parete può essere un determinante maggiore del consumo di ossigeno del muscolo cardiaco e della domanda energetica con conseguenze negative sulla funzione cardiaca. A questo proposito anche il picco di consumo di ossigeno ha mostrato una riduzione media di almeno 3 ml/kg/min, rispetto ai pazienti con GH normale.

Questo può essere causato non solo da un'alterata meccanica cardiaca, ma anche da un'azione ben conosciuta del GH sul muscolo scheletrico, letto vascolare e meccanica ventilatoria. Infatti in pazienti con SCC e GHD è stato riscontrato anche una ridotta efficienza ventilatoria, come dimostrato da più elevati valori di VE/VCO_2 slope, che rappresenta un indice di risposta ventilatoria all'esercizio e un accurato indice prognostico di mortalità cardiaca ed ospedalizzazione, riflettendo meglio le alterazioni periferiche nella fisiopatologia dello SCC.²³ La significativa associazione tra il grado di severità del GHD e i principali parametri di struttura e funzione del VS, e dall'altra parte gli indici di performance cardiopolmonare, supportano ulteriormente l'ipotesi di un'importante interazione tra il GHD e lo SCC (Figure 2-4). Il peggiore rimodellamento patologico del VS e performance cardiopolmonare di pazienti con SCC e GHD potrebbero essere correlati all'effetto del GHD che determina una ridotta performance cardiaca, un incremento delle resistenze vascolari periferiche e una ridotta capacità all'esercizio fisico.^{22,24} Infatti, diverse sperimentazioni ed evidenze cliniche hanno dimostrato il ruolo dell'asse GH/IGF-1 nel mantenimento di una normale struttura e funzione del VS.²⁵

Nella nostra popolazione di pazienti affetti da SCC ridotti livelli di IGF-1 non hanno mostrato avere effetti sull'architettura e funzione del VS, così come sui dati clinici, come è stato descritto nella tabella 3. Il picco di consumo di ossigeno è stato significativamente più basso in pazienti con SCC e deficit di IGF-1, sebbene altri parametri cardiopolmonari sono risultati essere marginalmente coinvolti. Una debole relazione lineare è stata riscontrata tra i livelli di IGF-1, il picco di consumo di O_2 ($r = .25$, $p = .029$) e il carico di lavoro all'acme dell'esercizio ($r = .23$, $p = .049$). Se consideriamo insieme questi dati appare che il GH esplica i suoi effetti sull'architettura e funzione del VS indipendentemente dai livelli plasmatici di IGF-1, e che l'azione sulla performance cardiopolmonare dell'IGF-1 potrebbe essere mediata dagli effetti sulla muscolatura scheletrica piuttosto che sul muscolo cardiaco. Di particolare interesse, un

precedente studio ha riportato simili valori del picco di consumo di ossigeno quando un gruppo più piccolo di pazienti affetti da SCC è stato suddiviso in due sottogruppi sulla base dei livelli sierici di IGF-1.¹¹ I livelli circolanti di IGF-1 non sono stati significativamente differenti nei pazienti con GHD e GH normale. Questo dato è ben conosciuto perché i livelli di IGF-1 dipendono da una serie di fattori piuttosto che dai livelli del GH, per cui normali valori di IGF-1 non escludono un GHD, anche se possono rappresentare un marker peggiore per il GHD.²⁶ Inoltre i livelli di IGFBP-3 sono risultati essere ridotti in pazienti affetti da SCC, determinando un incremento del rapporto IGF-1/IGFBP-3, che potrebbe giustificare un'aumentata disponibilità dell'IGF-1. Pazienti con SCC hanno mostrato avere un'elevata prevalenza del deficit di GH. I più comuni eventi causali che sono stati correlati all'insorgenza del GHD nell'adulto includono il trauma cerebrale, l'ictus, le masse cerebrali e gli interventi di neurochirurgia.²⁷ Rivalutando la storia clinica dei pazienti del nostro studio abbiamo riscontrato che soltanto 4 pazienti nel gruppo con GHD (9.5%) avevano un'anamnesi positiva per le condizioni precedentemente riportate (1 trauma, 2 interventi di neurochirurgia, 1 ictus), rispetto a 6 pazienti nel gruppo con GH normale (6.8%, 2 trauma, 2 ictus, 1 intervento di neurochirurgia, 1 emorragia cronica subdurale). Inoltre questi eventi clinici sono accaduti almeno tre anni prima dell'arruolamento nello studio. L'eziopatogenesi del GHD nello SCC potrebbe essere secondaria a multiple anomalie che includono: ridotta secrezione somatotropica, aumento della resistenza periferica al GH, iperattività somatostatinerica ipotalamica, interferenza farmacologica, cambiamenti nutrizionali nello SCC. Riguardo alla terapia farmacologica non è stata trovata alcuna significativa interferenza dei farmaci sul test di stimolo del GH. I nostri pazienti non hanno presentato segni di malnutrizione e nessuna differenza è stata riscontrata per quanto riguarda la variabile BMI nei due gruppi di GHD e GH normale. Inoltre un precedente studio di Ghigo et al. ha escluso un'iperreattività ipotalamica al test con arginina nella risposta del GHRH.¹⁹ Nel nostro studio

sono stati effettuati esami di imaging della regione della sella in pazienti con GHD con l'obiettivo di descrivere possibili anomalie dell'ipofisi o delle strutture intracraniche. Nella maggior parte dei casi (92%) non è stata riscontrata alcuna anomalia e in soli tre pazienti sono state riscontrate le seguenti patologie: 1 meningioma frontale, 1 adenoma non funzionante, 1 metastasi di cancro del polmone di nuova diagnosi. Tuttavia ulteriori studi sono necessari per chiarire il ruolo fisiopatologico del deficit di GH nello SCC. La prevalenza di deficit di IGF-1 è stata sorprendentemente bassa nella nostra popolazione. Abbiamo riscontrato che solo il 9,7% dei pazienti affetti da SCC presentava valori di IGF-1 al di sotto del cut-off stabilito dal 10th percentile dei valori nei controlli sani. Non è chiaro il riscontro combinato di una bassa attività dell'asse GH/IGF-1 nei pazienti con SCC (32% GHD), diagnosticata attraverso un test di stimolo, con normali valori di IGF-1 riscontrati insieme ad una elevata biodisponibilità, che potrebbe suggerire un'aumentata azione dell'IGF-1. Una possibilità è la riduzione dei livelli di IGFBP-3 con un conseguente aumento della biodisponibilità di IGF-1 secondaria alla proteolisi del IGFBPs, che è osservata in diverse patologie croniche, caratterizzate da bassi livelli dell'attività infiammatoria.²⁹ Dall'altra parte mentre l'asse del GH è ridotto nello SCC, una risposta compensativa potrebbe determinare un aumento della biodisponibilità dell'IGF-1 per migliorare il deficit anabolico. Allo stato dell'arte delle conoscenze in ambito endocrinologico è stato stabilito che il test di stimolo del GH rappresenta un indice attendibile dell'attività dell'asse GH/IGF-1, mentre i livelli di IGF-1, che sono associati all'IGFBP-3, dipendono da numerose variabili e non riflettono il livello di attività dell'asse GH/IGF-1. Per questo motivo la diagnosi di deficit di GH nei bambini e negli adulti richiede un test di stimolo ipofisario e non il dosaggio dell'IGF-1. Inoltre i nostri dati hanno dimostrato che i livelli di GH sono un fattore importante e determinante per l'architettura e la funzione del VS, rispetto ai livelli circolanti di IGF-1 e IGFBP-3. Una spiegazione potrebbe essere che il GH ha diversi effetti diretti sul

cuore indipendentemente dai livelli circolanti di IGF-1, come è stato dimostrato da precedenti lavori di Tivesten et al.³⁰ e Cittadini et al.³¹

Nessuno studio ha finora valutato in maniera sistematica l'attività dell'asse GH/IGF-1 in un'ampia popolazione di pazienti affetti da SCC, combinando misure dell'IGF-1 con la risposta ipofisaria del GH ad un test di stimolo. Il gruppo di Broglio et al. per la prima volta ha riportato in un piccolo gruppo di pazienti con cardiopatia dilatativa (30 pz) una risposta alterata del GH al test di stimolo con GHRH da solo o combinato con arginina.²⁸ Sebbene i dati di Broglio et al. risultano essere diversi dalla nostra dimostrazione di una ridotta risposta di stimolo del GH, gli stessi autori hanno riportato bassi livelli di IGF-1 in pazienti affetti da SCC, e nessuna associazione con la classe NYHA o con i parametri ecocardiografici. La possibile spiegazione di questa differenza potrebbe essere il numero del campione piccolo o il fatto che sono stati inclusi pazienti affetti da SCC in fase terminale o in attesa di trapianto cardiaco, che possono presentare un'alta prevalenza di resistenza al GH rispetto alla nostra popolazione che includeva pazienti con SCC di grado lieve-moderato.¹⁶

Diversi studi hanno misurato i livelli sierici di IGF-1 in pazienti con SCC e in controlli "matched" con risultati contrastanti. Lo studio di Al-Obaidi et al.³² ha mostrato un aumento dei livelli di IGF-1 nello SCC lieve, e più recentemente un aumento notevole dei livelli di IGF-1 è stato riportato in un'ampia coorte di pazienti affetti da SCC.³³ Dall'altra parte, diversi autori hanno descritto una riduzione dei livelli di IGF-1 nelle stesse popolazioni di pazienti affetti da SCC.^{12,28} Molti fattori potrebbero spiegare queste discrepanze. Tra questi l'interazione con la terapia farmacologica nello SCC, stato nutrizionale, attività fisica, età, sesso, ritmo circadiano, fattori genetici e co-esistenza di patologie croniche (malattie epatiche, diabete mellito e ipotiroidismo). Infine l'eterogeneità dei risultati di differenti gruppi potrebbe in parte essere spiegata dalla mancanza di omogeneità nelle metodiche utilizzate per la misurazione dei livelli di IGF-1.²⁶

Studio di sopravvivenza

Recenti evidenze della letteratura scientifica suggeriscono che nello SCC il deficit dei principali assi anabolici può svolgere un ruolo cruciale non solo riguardo lo sviluppo di anomalie funzionali cardiache ma soprattutto nella progressione della malattia e nella mortalità.⁴

La “Low T3 syndrome” si definisce come la presenza di ridotti livelli circolanti di triiodotironina (T3) in presenza di normali livelli di ormone tireotropo (TSH), dovuta a un difetto dell'azione enzimatica delle monodeiodasi. Come mostrato dallo studio di Iervasi et al., tale condizione clinica se è presente nei pazienti con malattia cardiaca, si associa ad una ridotta sopravvivenza.³⁴ Inoltre in pazienti affetti da SCC, a parità di valori di frazione di eiezione (F.E.), più bassi valori di T3 sono associati ad una prognosi peggiore.³⁵ Inoltre la somministrazione in acuto di T3 in pazienti affetti da SCC si associa ad una riduzione dei markers di attivazione neuro-ormonale quali aldosterone, noradrenalina e NT-proBNP, e ad una riduzione della frequenza cardiaca, contrariamente a quanto ci si possa aspettare.³⁶ Un recente studio pubblicato da un gruppo italiano ha riportato come una terapia sostitutiva con testosterone della durata di sei mesi comporti un miglioramento della capacità di esercizio fisico testimoniato dall'aumento dei valori di picco di consumo di ossigeno (VO2 peak) misurato durante CPET al cicloergometro.³⁷ Il principale asse anabolico studiato nei pazienti con SCC è l'asse somatotropico (GH/IGF-1), il cui deficit sembra essere parte attiva nella progressione della malattia, anche se tuttavia i dati sono ancora contrastanti. L'evidenza scientifica più significativa inerente i deficit anabolici nei pazienti con SCC è sicuramente quella fornita in un recente studio di Jankowska et al., secondo cui il deficit di ciascuno dei principali assi anabolici (rispettivamente DHEA-S per l'asse surrenalico, testosterone totale per l'asse gonadico e IGF-1 per l'asse somatotropico; da 0 a 3) rappresenta un fattore predittivo indipendente di mortalità in uomini affetti da SCC.¹² Tuttavia questo studio non ha

dimostrato che l'IGF-1 da solo può predire la mortalità nello SCC indipendentemente da altri fattori prognostici conosciuti.¹² Lo studio di Andreassen et al., invece non ha riscontrato alcun ruolo predittivo dei livelli di IGF-1 sulla mortalità o sull'ospedalizzazione di pazienti affetti da SCC.³⁸ Lo studio di Petretta et al. ha mostrato che il log IGF-1/GH, che rappresenta una stima della resistenza del GH, può avere un valore predittivo sulla mortalità da cause cardiache nello SCC, mentre sia l'IGF-1 e/o l'IGFBP-3 non hanno mostrato da soli di avere un valore predittivo sulla mortalità.¹⁵ Il recente lavoro di Watanabe et al. rappresenta l'unico studio che ha dimostrato la possibilità che i livelli del rapporto molare IGF-1mr possono predire la mortalità per tutte le cause in pazienti affetti da SCC. Questi autori hanno dimostrato che il rapporto molare IGF-1mr risulta essere predittivo dell'outcome indipendentemente dall'età, sesso, BMI, classe NYHA e insufficienza renale cronica. Tuttavia gli autori non hanno riportato i dati riguardanti l'IGF-1 da solo.³³ Se consideriamo insieme i precedenti studi citati nessuno di essi ha dimostrato che l'IGF-1 può avere un potere prognostico predittivo indipendente riguardo l'incremento della mortalità nello SCC. Il presente lavoro è attualmente l'unico in grado di dimostrare il valore predittivo prognostico dell'IGF-1 in una coorte di pazienti affetti da SCC a ridotta funzione sistolica del VS, probabilmente perchè è stato utilizzato un metodo di studio molto preciso, da una parte effettuando misurazioni centralizzate dei livelli di IGF-1 e IGFBP-3, dall'altra identificando un end-point primario molto robusto di mortalità per tutte le cause e un ragionevole periodo di follow-up (3.5 anni in media). Questi dati interessanti dovrebbero essere confermati o riprodotti da altri gruppi di studio per avvalorare i risultati, aprendo nuove possibilità e prospettive terapeutiche. A questo proposito in un recente studio preliminare del nostro gruppo di ricerca T.O.S.CA., in un sottogruppo di 17 pazienti affetti da SCC e deficit di GH versus 14 pazienti del gruppo di controllo, in un periodo di follow-up di circa 4 anni, il trattamento ormonale sostitutivo con GH ha dimostrato di poter ritardare la progressione della

malattia in termini di miglioramento della capacità funzionale, testimoniato dall'aumento dei valori di picco di consumo di ossigeno (VO₂ peak) misurato mediante CTEP, e dei dati di volumetria e funzione VS, non riportando alcun aumento significativo di eventi avversi.³⁹

CONCLUSIONI

Il deficit di GH, diagnosticato con il test di stimolo GHRH + arginina, ha un'elevata prevalenza nello SCC e identifica un sottogruppo di pazienti caratterizzati da un peggiore rimodellamento, architettura, e funzione del ventricolo sinistro e da una ridotta performance cardiopolmonare. Inoltre l'identificazione di difetti ormonali/metabolici può migliorare la stratificazione prognostica di pazienti affetti da SCC. A tal riguardo il deficit di IGF-1 ha dimostrato di essere un predittore indipendente di sopravvivenza in pazienti affetti da SCC e ridotta funzione sistolica del VS, fornendo nuove evidenze fisiopatologiche per il disegno di futuri studi clinici di intervento volti a dimostrare il potenziale ruolo terapeutico di trattamenti ormonali sostitutivi.

Bibliografia

1. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Køber L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Rønnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A; Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology, Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, McDonagh T, Sechtem U, Bonet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, Iung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(8):803-69.
2. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, Capewell S, McMurray JJ. More 'malignant' than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001;3:315–322.
3. Mann DL. Mechanisms and models in heart failure: A combinatorial approach. *Circulation.* 1999; 100: 999-1008.
4. Sacca L. Heart failure as a multiple hormonal deficiency syndrome. *Circulation Heart failure.* 2009;2:151-156.

5. Clark AL. Origin of symptoms in chronic heart failure. *Heart* 2006; 92:12-16.
6. Berry C, Clark AL. Catabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2000; 21: 521-532.
7. Saccà L, Cittadini A, Fazio S. Growth hormone and the heart. *Endocr Rev.* 1994;15(5):555-73.
8. Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jørgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation.* 2002; 106: 939-944.
9. Rosén T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet.* 1990; 336: 285-288.
10. Vasan RS, Sullivan LM, D'Agostino RB et al. Serum insulin-like growth factor I and risk for heart failure in elderly individuals without a previous myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med.* 2003 21;139: 642-648.
11. Niebauer J, Pflaum CD, Clark AL, Strasburger CJ, Hooper J, Poole-Wilson PA, Coats AJ, Anker SD. Deficient insulin-like growth factor i in chronic heart failure predicts altered body composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:393-7.
12. Jankowska EA, Biel B, Majda J, Szklarska A, Lopuszanska M, Medras M, Anker SD, Banasiak W, Poole-Wilson PA, Ponikowski P. Anabolic deficiency in men with chronic heart failure: prevalence and detrimental impact on survival. *Circulation* 2006;114:1829–37.
13. Toth MJ, Gottlieb SS, Fisher ML, Poehlman ET. Daily energy requirements in heart failure patients. *Metabolism.* 1997;46:1294-8.

14. Obisesan TO, Toth MJ, Donaldson K, Gottlieb SS, Fisher ML, Vaitekėvicius P, Poehlman ET. Energy expenditure and symptom severity in men with heart failure. *Am J Cardiol.* 1996;77:1250-2.
15. Petretta M, Colao A, Sardu C, Scopacasa F, Marzullo P, Pivonello R, Fontanella L, de Caterina M, de Simone A, Bonaduce D. NT-proBNP, IGF-I and survival in patients with chronic heart failure. *Growth Horm IGF Res.* 2007;17:288-96.
16. Anker SD, Volterrani M, Pflaum CD, Strasburger CJ, Osterziel KJ, Doehner W, Ranke MB, Poole-Wilson PA, Giustina A, Dietz R, Coats AJ. Acquired growth hormone resistance in patients with chronic heart failure: implications for therapy with growth hormone. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:443-52.
17. Bossone E, Limongelli G, Malizia G, Ferrara F, Vrız O, Citro R, Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Sirico D, Caliendo L, Ballotta A, D'Andrea A, Frigiola A, Isgaard J, Saccà L, Antonio C; T.O.S.CA. Investigators. The T.O.S.CA. Project: research, education and care. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2011;76:198-203.
18. Agenzia Italiana del Farmaco. Nota 39 <http://www.Agenziafarmaco.Gov.It/it/content/nota-39>. Accessed January, 10 2014
19. Ghigo E, Aimaretti G, Gianotti L, Bellone J, Arvat E, Camanni F. New approach to the diagnosis of growth hormone deficiency in adults. *European journal of endocrinology.* 1996;134:352-56.
20. Ross RM. Ats/accp statement on cardiopulmonary exercise testing. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2003;167:1451.
21. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: A report from the american society of echocardiography's guidelines and standards committee and the chamber quantification writing group, developed in conjunction with the european association of echocardiography, a branch of the

- European Society of Cardiology. Journal of the American Society of Echocardiography. 2005;18:1440-63.
22. Sacca L. Growth hormone: A newcomer in cardiovascular medicine. Cardiovascular research. 1997;36:3-9.
23. Gitt AK, Wasserman K, Kilkowski C, et al. Exercise anaerobic threshold and ventilatory efficiency identify heart failure patients for high risk of early death. Circulation. 2002;106:3079-84.
24. Colao A, Di Somma C, Savanelli MC, De Leo M, Lombardi G. Beginning to end: Cardiovascular implications of growth hormone (gh) deficiency and gh therapy. Growth hormone & IGF research. 2006;16 Suppl A:S41-48.
25. Arcopinto M, Bobbio E, Bossone E, et al. The gh/igf-1 axis in chronic heart failure. Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets. 2013;13:76-91.
26. Ho KK. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adults with gh deficiency ii: A statement of the gh research society in association with the European Society for Pediatric Endocrinology, Lawson Wilkins Society, European Society of Endocrinology, Japan Endocrine Society, and Endocrine Society of Australia. European journal of endocrinology. 2007;157:695-700.
27. Aimaretti G, Corneli G, Rovere S, Granata R, Baldelli R, Grottoli S, Ghigo E. Insulin-like growth factor I levels and the diagnosis of adult growth hormone deficiency. Horm Res. 2004;62 Suppl 1:26-33.
28. Broglio F, Benso A, Gottero C, et al. Patients with dilated cardiomyopathy show reduction of the somatotroph responsiveness to ghrh both alone and combined with arginine. European journal of endocrinology. 2000;142:157-63.

29. Frystyk J. Free insulin-like growth factors -- measurements and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. *Growth hormone & IGF research*. 2004;14:337-75.
30. Tivesten A, Bollano E, Caidahl K, et al. The growth hormone secretagogue hexarelin improves cardiac function in rats after experimental myocardial infarction. *Endocrinology*. 2000;141:60-66.
31. Cittadini A, Stromer H, Vatner DE et al. Consequences of growth hormone deficiency on cardiac structure, function, and beta-adrenergic pathway: Studies in mutant dwarf rats. *Endocrinology*. 1997;138:5161-69.
32. Al-Obaidi MK, Hon JK, Stubbs PJ, Barnes J, Amersey RA, Dahdal M, Laycock JF, Noble MI, Alaghband-Zadeh J. Plasma insulin-like growth factor-1 elevated in mild-to-moderate but not severe heart failure. *Am Heart J*. 2001;142:E10.
33. Watanabe S, Tamura T, Ono K, Horiuchi H, Kimura T, Kita T, Furukawa Y. Insulin-like growth factor axis (insulin-like growth factor-I/insulin-like growth factor-binding protein-3) as a prognostic predictor of heart failure: association with adiponectin. *Eur J Heart Fail*. 2010;12:1214-22.
34. Iervasi G, Pingitore A, Landi P, Raciti M, Ripoli A, Scarlattini M, L'Abbate A, Donato L. Low-T3 syndrome: a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease. *Circulation*. 2003;107:708-13.
35. Pingitore A, Landi P, Taddei MC, Ripoli A, L'Abbate A, Iervasi G. Triiodothyronine levels for risk stratification of patients with chronic heart failure. *Am J Med*. 2005; 118: 132-136.
36. Pingitore A, Galli E, Barison A, Iervasi A, Scarlattini M, Nucci D, L'abbate A, Mariotti R, Iervasi G. Acute effects of triiodothyronine (T3) replacement therapy in

- patients with chronic heart failure and low-T3 syndrome: a randomized, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93:1351-1358.
37. Caminiti G, Volterrani M, Iellamo F, Marazzi G, Massaro R, Miceli M, Mammi C, Piepoli M, Fini M, Rosano GM. 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.* 2009; 54: 919-927.
38. Andreassen M, Kistorp C, Raymond I, Hildebrandt P, Gustafsson F, Kristensen LO, Faber J. Plasma insulin-like growth factor i as predictor of progression and all cause mortality in chronic heart failure. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society.* 2009;19:486-490.
39. Cittadini A, Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Salzano A, Sirico D, Napoli R, Colao A, Longobardi S, Baliga RR, Bossone E, Saccà L. 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.* 2013;1:325-30.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche, ormonali e funzionali della popolazione studiata.

	<i>Gruppo controllo</i> <i>n=190</i>	<i>Gruppo SCC</i> <i>n=188</i>	<i>p</i>
Età (anni)	63.7±1.1	64.4±.5	.61
Sesso (% uomini)	69	71	.75
BMI (kg/mq)	27.2±.4	27.8±.2	.32
Eziologia SCC: CAD/no CAD (%)	-	60/40	-
Emoglobina (g/dL)	13.9±.07	13.3±.08	.10
Classe NYHA (I/II/III)	-	8/115/65	-
NT-proBNP (pg/mL)*	-	742.3 (202.2-3156.5)	-
Creatinina (mg/dL)	.97±.04	1.17±.08	.05
eGFR (mL/min)	90.5±1.2	68.2±3.2	.04
Diabete (%)	-	26.8	-
TSH (mU/mL)	2.4±.1	2.0±.2	.09
IGF-1 (ng/mL)*	136.0 (101.0-165.5)	130.0 (97.3-163.6)	.42
IGFBP-3 (mg/L)*	3.7 (3.2-4.3)	3.2 (2.6-3.9)	.001
IGF-1/IGFBP3 molar ratio*	138.5 (115.9-154.8)	148.0 (130.6-174.6)	.006

I dati sono espressi come media ± DS; *dati espressi come mediana (range interquartile); eGFR, valore stimato di filtrato glomerulare renale; CAD, malattia coronarica

Tabella 2. Variabili cliniche, morfologia del ventricolo sinistro e dati funzionali cardiopolmonari derivati dall'esame CPET nei due sottogruppi di pazienti suddivisi secondo i livelli di GH normali e deficit di GH dopo test di stimolo.

	GH normale (n=88)	GH deficit (n=42)	<i>P</i>
Età (anni)	61.6±1.1	63.6±1.5	.41
Sesso (% uomini)	68	81	.03
BMI (kg/mq)	27.7±.5	27.9±.6	.76
Classe funzionale NYHA	2.4±.06	2.5±.1	.25
IGF-1 (ng/mL)*	136.0 (106.7=173.3)	1340.5 (97.2-130.5)	.84
IGFBP-3 (mg/L)*	3.3 (2.7-4.1)	3.2 (2.8-3.7)	.37
IGF-1/IGF-BP3 molar ratio *	152.0 (133.1-170.0)	156.6 (134.6-172.1)	.72
Emoglobina (mg/dL)	13.8±.3	13.8±.3	.94
Glicemia (mg/dL)	109.2±7.3	96.3±1.8	.09
Diabete (%)	20.0	21.1	.40
Colesterolo (mg/dL)	180.3±4.4	166.4±5.9	.076
Trigliceridi (mg/dL)	105.8±4.6	122.1±10.2	.095
NT-proBNP (pg/mL)*	842 (182-2510)	794 (278-4579)	.32
Volume diastolico VS i (mL/mq)	106±6	147±15	.008
Volume sistolico VS i (mL/mq)	79±5	105±14	.015
Frazione d'iezione VS (%)	34±1	32±2	.48
Stress di parete sistolico (kdynes / m ²)	310±22	398±31	.03
E/A ratio	1.3±.4	1.6±.2	.31
E/E' ratio	13.6±1.6	18.1±2.4	<.001
Picco di VO ₂ uptake (mL/kg/min)	16.8±.6	14.0±.5	.001
Workload (watts)	93.1±5.2	81.8±10.0	.27
VE/VCO ₂ slope	28.4±0.6	32.0±1.9	.002

I dati sono espressi come media ± deviazione standard; *dati espressi come mediana e range interquartili; i, dati volumetrici indicizzati su superficie corporea (BSA)

Tabella 3. Variabili cliniche, morfologia del VS e dati funzionali cardiopolmonari derivati dall'esame CPET secondo il cut-off-stabilito di IGF-1.

	IGF-1 < 130 mg/L (n=94)	IGF-1 > 130 mg/L (n=94)	<i>P</i>
Età (years)	65.5±1.1	63.5±1.4	.23
Sesso (% uomini)	69	75	.34
BMI (kg/mq)	27.7±.6	27.9±.5	.80
Classe funzionale NYHA	2.4±.1	2.4±.1	.61
IGF-1 (ng/mL) *	98.0 (77.0-113.0)	164.8 (139.0-200.0)	<.0001
IGFBP-3 (mg/L) *	2.9 (2.2-3.5)	3.8 (3.2-4.3)	<.0001
IGF-1/IGFBP-3 rapporto molare *	133.6 (111.0-144.3)	168.7 (151.7-194.8)	<.0001
Deficit di GH (%)	36.4	32.3	.73
Glucosio (mg/dl)	103.5±4.2	108.6±4.1	.39
Diabete (%)	26.5	19.6	.02
Colesterolo (mg/dL)	160.6±4.6	167.1±4.5	.31
Trigliceridi (mg/dL)	116.6±7.1	118.9±6.7	.81
NT-proBNP (pg/mL) *	1029 (317-4064)	509.0 (176-1703)	.25
Picco di VO ₂ uptake (mL/kg/min)	15.2±.7	17.7±.9	.031
Workload (watts)	77.5±4.5	98.1±8.8	.023
VE/VCO ₂ slope	34.1±1.5	33.7±1.7	.86
Volume diastolico VS i (mL/mq)	117.9±8.7	119.6±6.0	.57
Volume sistolico VS i (mL/mq)	83.0±6.4	83.6±5.2	.70
Frazione d'iezione VS (%)	33.6±1.3	30.5±1.3	.09

I dati sono espressi come media ± DS; *dati espressi come mediana (range interquartile); i, dati volumetrici indicizzati su superficie corporea (BSA); VS, ventricolo sinistro.

Tabella 4. Variabili cliniche e demografiche della popolazione di pazeinti affetti da SCC suddivide in due gruppi secondo il valore di cut-off stabilito per l'IGF-1 (IGF-1 = 122 ng/mL).

	IGF-1 < 122 ng/mL (n=106)	IGF-1 > 122 ng/mL (n=101)	<i>p</i>
Età (anni)	67.3±1.0	65.0±1.2	.16
Sesso (% maschi)	69	78	.12
BMI (kg/mq)	28.9±.6	28.5±.5	.62
Classe NYHA (I/II/III)	5/60/41	4/58/39	
IGF-1 (ng/mL)*	97.0 (78.3-109.0)	163.0 (136.0-198.0)	<.0001
IGFBP-3 (µg/mL)	2.8 (2.3-3.4)	3.8 (3.2-4.3)	<.0001
IGF-1/IGFBP-3 molar ratio*	133.7 (111.0-144.3)	158.3 (148.0-193.1)	<.0001
Glicemia (mg/dl)	105.6±5.1	113.7±5.3	.28
Diabete Mellito (%)	27.7	21.6	.13
Colesterolemia (mg/dl)	171.6±4.7	176.9±4.2	.41
Trigliceridemia (mg/dl)	123.2±7.6	121.5±6.2	.86
NT-proBNP (pg/mL)*	432 (166-1549)	529 (158-2596)	.25
ACE / ARB (%)	97	95	
β-bloccanti (%)	87	92	
Digossina (%)	17	15	
Sironolattone (%)	42	39	
Diuretici (%)	69	74	

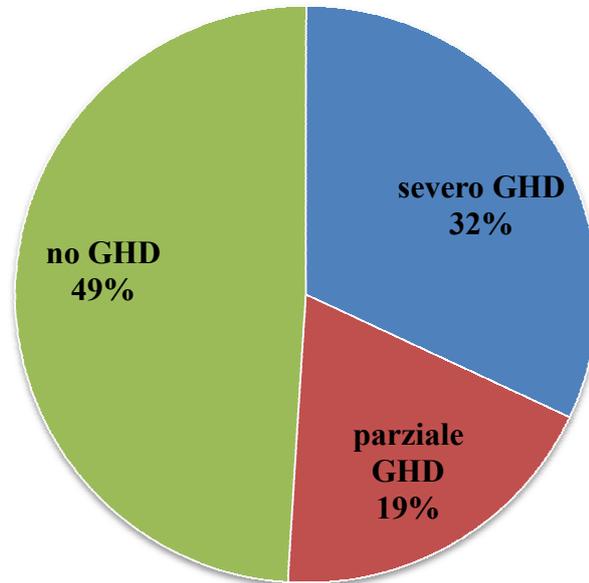
*I dati sono espressi come media ± deviazione standard; *dati espressi come mediana (range interquartile);*

Tabella 5. Analisi univariata e multivariata per i predittori di mortalità nella nostra popolazione di pazienti affetti da SCC.

Variabile	Analisi univariata per i predittori di mortalità			Analisi multivariata per i predittori di mortalità		
	HR	95% CI	<i>p</i>	HR	95% CI	<i>p</i>
Età > valore della mediana	1.10	.62-1.97	.743			
Sesso maschile	1.03	.49-2.21	.930			
BMI > valore della mediana	.64	.34-1.19	.158			
Eziologia ischemica	1.34	.74-2.45	.336			
Presenza di Diabete	1.97	1.01-3.82	.044	1.54	.74-3.20	.249
Classe NYHA I-III	2.46	1.34-4.51	.004	2.23	1.14-4.34	.018
Hb < valore della mediana	1.06	.56-2.01	.851			
eGFR < 60 ml/min	0.98	.39-2.41	.96			
NT-proBNP > mediana	1.32	.57-3.07	.516			
IGF-1 < 122 ng/mL	3.37	1.70-6.67	<.0001	4.10	1.85-9.07	.001

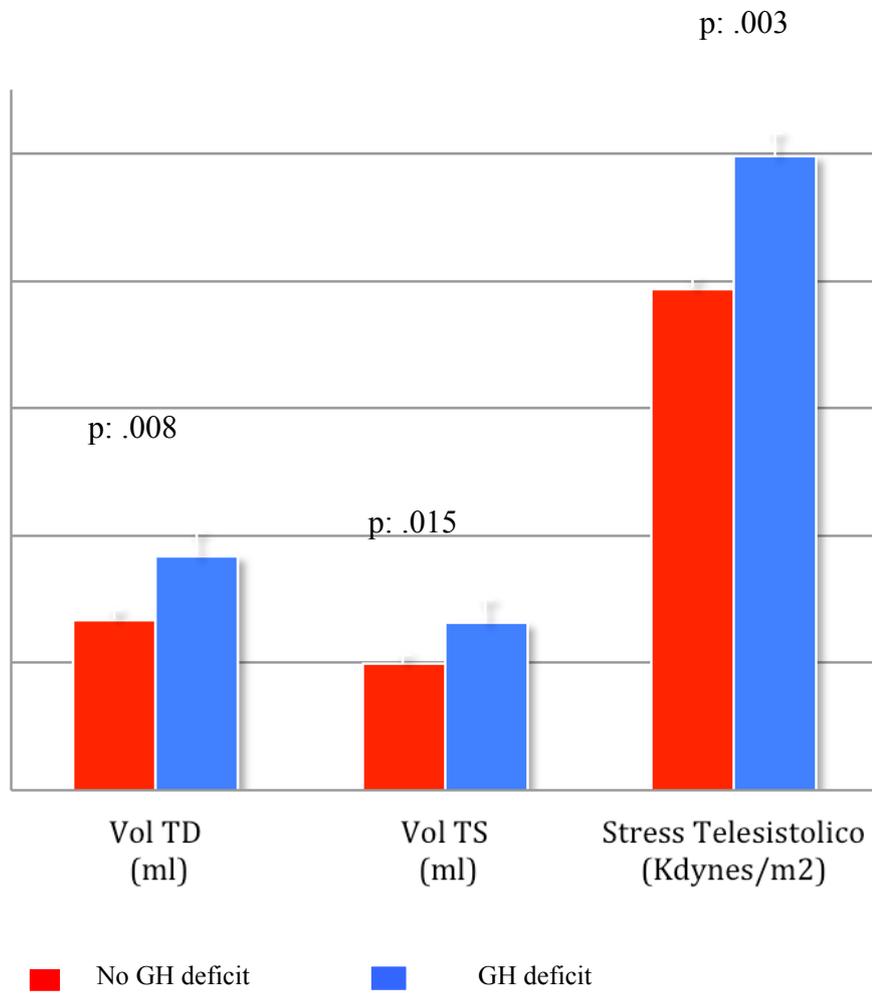
HR, hazard ratio; CI, intervallo di confidenza; Hb, Emoglobina; eGFR, valore stimato di filtrato glomerulare renale

Figura 1. Prevalenza del deficit di GH dopo test di stimolo in pazienti affetti da SCC.



Legenda: La prevalenza dei differenti deficit di GH è stata stimata secondo i seguenti valori di cut-off: ■ GH peak < 9 µg/L (GHD severo); ■ 9 < GH peak < 16.5 µg/L (GHD parziale); ■ GH peak > 16.5 µg/L (no GHD)

Figura 2. Volumetria del ventricolo sinistro e indice di stress parietale secondo la presenza o meno di deficit di GH in pazienti affetti da SCC .



Legenda: TD, telediastole; TS, telesistole.

Figura 3. Performance cardiopolmonare valutata mediante CPET in pazienti affetti da SCC secondo la presenza o meno di deficit di GH.

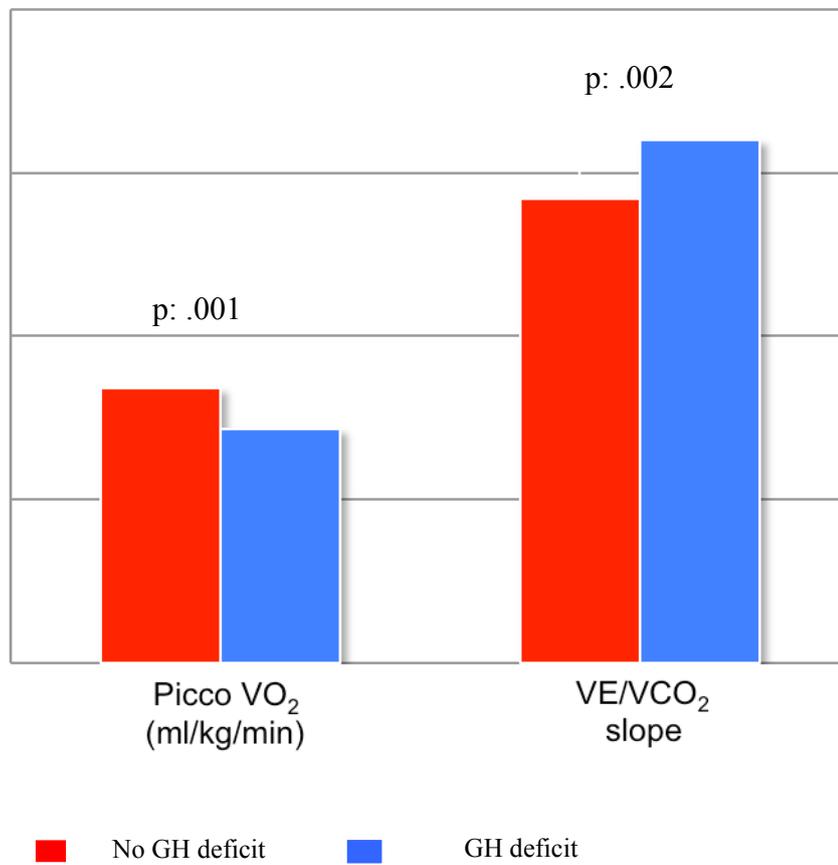
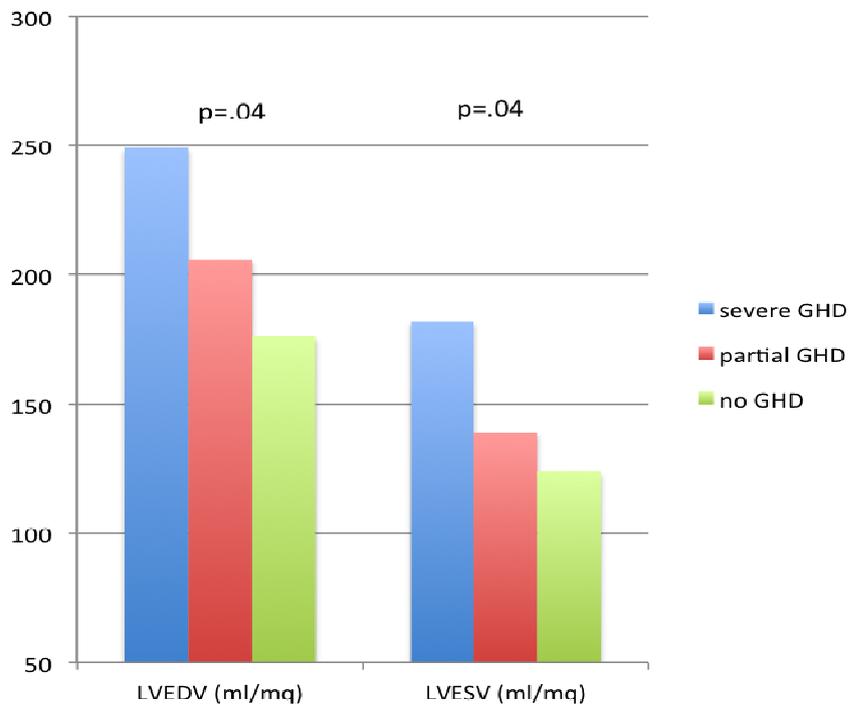


Figura 4. Volumetria del ventricolo sinistro secondo la severità del deficit di GH in pazienti affetti da SCC .



Legenda: valori medi di volumetria ventricolare sinistra indicizzati su superficie corporea tra le diverse classi di severità del deficit di GH nello SCC.

Figura 5. Analisi di sopravvivenza secondo i valori di IGF-1 e il rapporto molare IGF-1/IGFBP-3 in pazienti affetti da SCC: curve di Kaplan Meier e analisi log-rank.

