



**SAPIENZA**  
UNIVERSITÀ DI ROMA

Dottorato di Ricerca in Scienze Endocrinologiche

XXXVI ciclo

Dipartimento di Medicina Sperimentale

Coordinatore Prof Lucio Gnessi

Tesi di Dottorato di Ricerca

**Nuove frontiere nella patogenesi delle  
comorbidity nel paziente con acromegalia:  
ruolo dell'IL33 e della disfunzione  
endoteliale**

**Dottoranda**

Dott.ssa Denise Costa

**Supervisore**

Prof.ssa Camilla Virili

**Co-Supervisor**

Prof.ssa Patrizia Gargiulo

Prof. Edoardo Rosato

A.A. 2022-2023

## Indice

<b>1. L'acromegalia</b> .....	<b>4</b>
<i>1.1 Introduzione</i> .....	4
<i>1.2 GH e IGF1: Fisiologia e Fisiopatologia</i> .....	5
<i>1.3 Adenomi somatotropi: Patogenesi</i> .....	7
<i>1.4 Caratteristiche patologiche</i> .....	8
<i>1.5 Caratteristiche cliniche dell'Acromegalia</i> .....	9
<i>1.6 Epidemiologia e Incidenza</i> .....	9
<i>1.7 Comorbidità</i> .....	11
<i>1.8 Mortalità</i> .....	14
<b>2. Diagnosi</b> .....	<b>14</b>
<i>2.1 Diagnosi biochimica</i> .....	16
<i>2.2 Diagnosi strumentale</i> .....	19
<b>3. Trattamento</b> .....	<b>22</b>
<i>3.1 Chirurgia</i> .....	23
<i>3.2 Radioterapia</i> .....	24
<i>3.3 Terapia Medica</i> .....	26
<i>3.4 Monitoraggio clinico e Target Terapeutico</i> .....	31
<i>3.5 Fattori Prognostici sfavorevoli nel paziente con Acromegalia</i> .....	33
<b>4. Gestione delle complicanze dell'Acromegalia</b> .....	<b>34</b>
<i>4.1 Complicanze cardiovascolari</i> .....	34
<i>4.2 Complicanze respiratorie</i> .....	37
<i>4.3 QoL</i> .....	38
<i>4.4 Ossa e articolazioni</i> .....	38
<i>4.5 Ipogonadismo</i> .....	39
<i>4.6 Complicanze metaboliche</i> .....	39

<i>4.7 Acromegalia e neoplasia</i> .....	41
<b>5.Acromegalia e malattie autoimmuni</b> .....	<b>43</b>
<b><u>6.Aspetti infiammatori e profilo microvascolare nel paziente con Acromegalia</u></b> .....	<b>48</b>
<i>6.1 Stato infiammatorio e mediatori dell'infiammazione</i> .....	48
<i>6.2 Le caratteristiche infiammatorie nel paziente con acromegalia</i> .....	50
<i>6.3 Il segnale IL33/ST2</i> .....	52
<i>6.4 La Valutazione del profilo microvascolare</i> .....	55
<b>7. Acromegalia e White Matter Hyperintensities</b> .....	<b>57</b>
<b>8. Cefalea nel paziente con Acromegalia</b> .....	<b>58</b>
<i>8.1 Disfunzione endoteliale e Cefalea</i> .....	59
<b>9. Eemicrania e WMHs</b> .....	<b>63</b>
<b>PARTE SPERIMENTALE</b>	
<b>10. Obiettivi dello studio</b> .....	<b>64</b>
<b>11. Pazienti e Metodi</b> .....	<b>65</b>
<b>12.Analisi Statistica</b> .....	<b>71</b>
<b>13.Risultati</b> .....	<b>72</b>
<b>14. Discussione</b> .....	<b>78</b>
<b>15. Conclusione</b> .....	<b>85</b>
<b>16. Prospettive future</b> .....	<b>86</b>
<b>Bibliografia</b>	

## 1. Acromegalia

### 1.1 Introduzione

I tumori ipofisari rappresentano circa il 15% delle neoplasie primitive intracraniche. Per la loro particolare posizione nella fossa cranica media, possono causare sintomi e segni compressivi. Tuttavia, poiché l'ipofisi produce una varietà di ormoni, la proliferazione cellulare delle cellule ipofisarie può associarsi ad un ampio spettro di malattie endocrino-metaboliche. Infatti, la ghiandola ipofisaria produce ormoni capaci di influenzare i surreni, la tiroide, il sistema riproduttivo, oltre che le funzioni di crescita e del metabolismo dell'individuo. La sua attività è sotto la regolazione dell'ipotalamo ma risente anche di segnali paracrini intraipofisari e periferici. La formazione di un adenoma ipofisario può verificarsi quando un singolo clone di cellule inizia a proliferare e secernere in eccesso l'ormone per cui è stato programmato (proliferazione monoclonale).

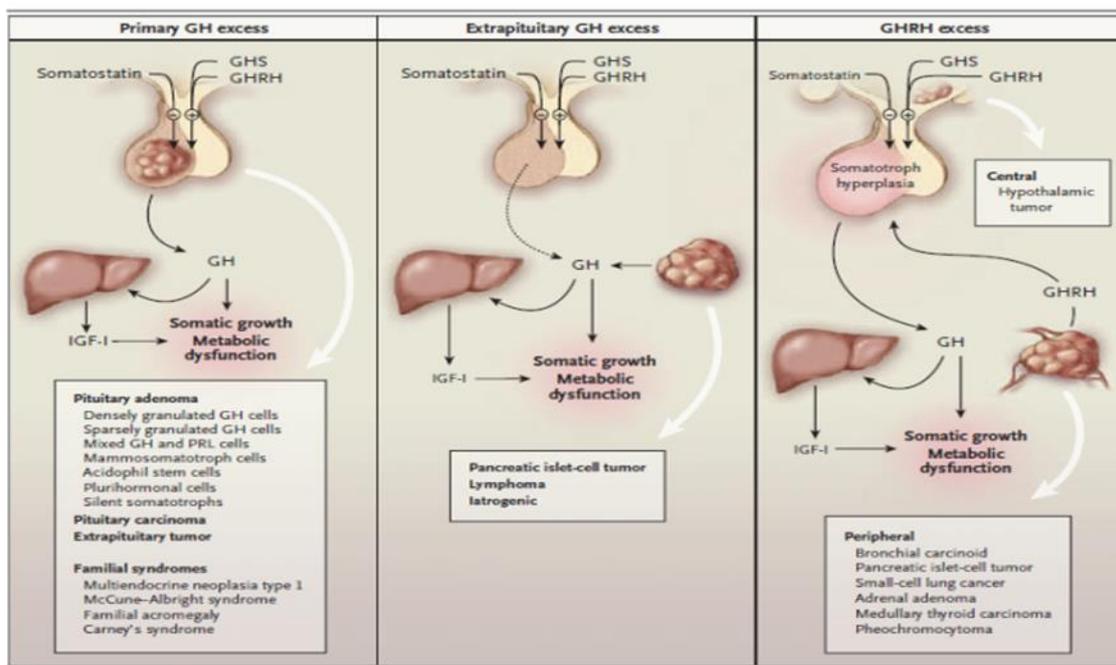
L'Acromegalia è il risultato di una proliferazione monoclonale di cellule somatotrope che producono ormone della crescita (GH). Una cascata di fattori genetici e trascrizionali sono responsabili della sintesi e secrezione del GH. In particolare, la crescita e la proliferazione delle cellule somatotrope sono sotto il controllo di un gene chiamato Prophet del Pit-1 (PROP1) che controlla lo sviluppo embrionale del fattore di trascrizione delle cellule del Pit-1 (POU1F1). Pit-1 si lega al promoter del GH dentro il nucleo cellulare e determina la trascrizione del GH. Il GH viene secreto come polipeptide e rilasciato in circolo in modo pulsatile sotto il duplice controllo dei fattori di rilascio e di inibizione dell'ipotalamo, i quali, attraverso un sistema portale, agiscono direttamente sulla superficie recettoriale ipofisaria. Il *fattore di rilascio del GH* induce la sintesi e la

secrezione dell'ormone della crescita, mentre la *somatostatina* ne inibisce la secrezione (Figura 1). L'ormone della crescita è regolato anche dalla *grelina*, principalmente sintetizzata nel tratto gastrointestinale in base alla disponibilità dei nutrienti. Alcuni studi suggeriscono che la sua azione sul rilascio del GH sia mediata principalmente da meccanismi ipotalamici.

## 1.2 GH e IGF-1: fisiologia e fisiopatologia

Quando misurato in persone sane con l'utilizzo delle metodiche standardizzate, il GH può risultare indosabile (per la maggior parte della giornata è  $<0.2\mu\text{g/l}$ ), ma ci sono circa 10 pulsazioni intermittenti di GH nelle 24 ore, più spesso di notte, per cui i livelli possono arrivare anche a  $30\mu\text{g/l}$ . Questi picchi sono più frequenti nei pazienti acromegalici. Nei casi di ipersecrezione di ormone della crescita (GH), è possibile assistere al Gigantismo o all'Acromegalia, a seconda dell'età in cui il soggetto viene colpito.

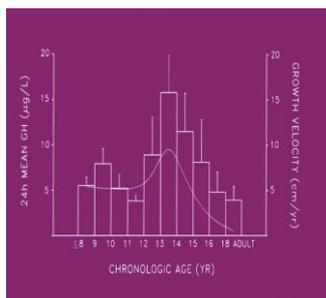
Figura n.1



Il GH è un polipeptide di 191 aminoacidi (circa il 10% si può trovare sotto forma di 176 aminoacidi), che viene trasportato in circolo da una proteina di trasporto capace di aumentarne l'emivita plasmatica, regolarne la biodisponibilità e in grado di legare il dominio extracellulare del recettore del GH. La sua azione fisiologica è esercitata in modo diretto o mediato da IGF-1 e si esplica soprattutto sull'osso e sulle cartilagini, sul metabolismo proteico, lipidico e glicidico.

Ha un'emivita breve (circa 20 minuti), è secreto in modo pulsatile e i suoi picchi secretivi, come già detto, presentano una frequenza e un'ampiezza che seguono un ritmo circadiano nictemerale a cui si sovrappone una componente pulsatile episodica ultradiana.

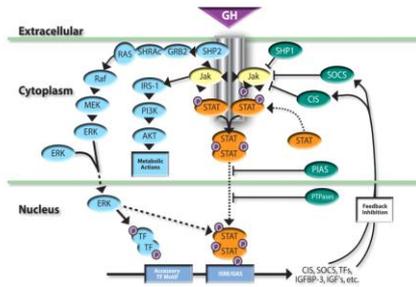
*Figura n.2*



La maggiore quantità di GH viene secreta di notte nelle fasi 3 e 4 del sonno REM, mentre i picchi di secrezione diurna, inferiori per numero, possono essere sia spontanei che provocati da esercizio fisico, stress, ipoglicemia, alcuni aminoacidi e farmaci. Quindi, è improprio indicare un range di normalità per le concentrazioni ematiche di GH poiché nel soggetto normale i livelli in circolo di GH possono variare fisiologicamente da concentrazioni basali inferiori a 0.1µg/l a concentrazioni superiori ai 30 µg/l. La secrezione di GH può risultare inibita negli obesi, in seguito all'introito di carboidrati e di acidi grassi. Inoltre, i suoi picchi secretivi si riducono in altezza e frequenza con l'avanzare dell'età (Figura 2). Il suo recettore presenta una struttura dimerica, analoga a quella del recettore

dell'insulina, ed è capace di andare incontro a modifiche provocando una cascata di segnali quando occupato dal suo ligando (Figura 3).

Figura n.3



Il GH promuove la sintesi dell'IGF-1, un polipeptide a catena unica di 70 aminoacidi con 3 ponti disolfuro, organizzato in 4 domini (A, B, C, D). A e B sono analoghi ai domini A e B dell'insulina, C è analogo al C-peptide, D è specifico. La maggior parte dell'IGF-1 (>95%) circola nel sangue legata a proteine di trasporto (IGF Binding Protein, IGFBP). Sono state identificate 6 diverse specie molecolari di IGFBP; la più importante di esse è l'IGFBP-3 che, insieme a una terza proteina (la "subunità acido-labile"), forma un complesso ternario di 140-150 kDa, corrispondente all'85% circa dell'IGF-1 circolante. La sintesi dell'IGF-1 ha luogo per il 50% a livello epatico e per la restante quota a livello dei condrociti delle cartilagini di accrescimento, dei fibroblasti e delle cellule di altri tessuti. L'IGF-1 libera (1-2% di quella circolante) è la quota biologicamente attiva e ha un'emivita di circa 10 minuti, mentre la forma legata all'IGFBP-3 ha un'emivita di 12-15 ore. L'IGF-1, attraverso effetti endocrini, paracrini ed autocrini, induce la proliferazione cellulare ed inibisce l'apoptosi. Anche i livelli di IGF-1 sono più alti durante l'adolescenza e si riducono con l'avanzare dell'età, sono influenzati dal sesso e da fattori genetici e risultano più elevati in gravidanza. La produzione dell'IGF-1 è soppressa nei pazienti malnutriti, così come nei pazienti con epatopatia, ipotiroidismo e diabete mellito scarsamente controllato.

### 1.3 Adenomi somatotropi –Patogenesi

La cascata molecolare responsabile della formazione di un tumore GH secernente è regolata da fattori che influenzano l'interazione dinamica tra la proliferazione delle cellule somatotrope e la loro secrezione. Le modificazioni genetiche a cui vanno incontro le cellule che formano l'adenoma somatotropo comprendono: l'instabilità cromosomica, le alterazioni epigenetiche e le mutazioni.

### 1.4 Caratteristiche patologiche

Più del 90% dei pazienti acromegalici presenta un adenoma ipofisario GH secernente derivato da un singolo clone (origine monoclonale benigna). Gli adenomi somatotropi sono più spesso densamente granulati e crescono lentamente; di solito sono diagnosticati in pazienti con un'età superiore ai 50 anni. Nei pazienti più giovani, invece, gli adenomi hanno una crescita più rapida e sono scarsamente granulati. Circa il 25% degli adenomi somatotropi secerne anche prolattina; si tratta o di adenomi dimorfi composti da cellule PRL e GH secernenti, o adenomi monomorfi somatomammotropi (produttori sia di PRL sia di GH) oppure di adenomi che originano da cellule staminali acidofile più indifferenziate. Quest'ultimo tipo è più frequente negli adolescenti e spesso causa Gigantismo. Indipendentemente dalla clinica, all'esame istologico dell'adenoma dei pazienti acromegalici, i patologi possono riscontrare una immunoreattività di singole cellule (per il GH) oppure una immunoreattività multicellulare pluriormonale (adenomi GH-PRL, GH-TSH, GH-ACTH). Tuttavia, raramente l'ipersecrezione pluriormonale è clinicamente evidente.

Nel 70% dei tumori somatotropi alla diagnosi si tratta di macroadenomi, rari sono i carcinomi GH secernenti che possono essere diagnosticati solo in presenza di metastasi dimostrate con criteri rigorosi. L'ipersecrezione ectopica di GH è stata descritta in casi isolati di tumori delle isole pancreatiche o linfomi. Rare sono

le forme di Acromegalia familiare. L'ipersecrezione di GH può essere secondaria anche ad una ipersecrezione di GHRH (ormone di rilascio del GH), questa condizione si verifica sia in presenza di tumori dell'ipotalamo (es. gangliocitomi) sia in caso di tumori neuroendocrini periferici.

### 1.5 Caratteristiche cliniche dell'Acromegalia

Le manifestazioni cliniche dell'Acromegalia sono molteplici e comprendono: modifiche delle estremità acrali (volto dai lineamenti grossolani, protrusione delle bozze frontali, prognatismo della mandibola, ingrossamento di mani e piedi), edema dei tessuti molli, artropatie, effetti dismetabolici (alterata glicemia a digiuno, diabete mellito, ipertrigliceridemia), compromissione della funzionalità cardiaca (ipertensione arteriosa, cardiomiopatia acromegalia), iperidrosi, alterazioni della funzionalità respiratoria e apnee ostruttive notturne (Tabella 1). L'ipersecrezione di GH, quando si verifica nei pazienti giovani prima della chiusura delle epifisi ossee, è responsabile del Gigantismo.

### 1.6 Epidemiologia: Incidenza e prevalenza

L'*incidenza* dell'Acromegalia è approssimativamente di *3 casi su 1 milione* di persone all'anno, la *prevalenza* è di circa *60 casi su 1 milione*. Sono colpiti in egual modo il sesso maschile e femminile, l'età media alla diagnosi per entrambi i sessi è di circa 40 anni. Le caratteristiche cliniche della malattia si sviluppano insidiosamente anche per decine di anni ma di solito i pazienti fanno risalire l'inizio dei segni e sintomi a 7-10 anni prima della diagnosi; in altri casi la malattia acromegalica viene diagnosticata in seguito a disturbi della vista, cefalea, alterazioni odontostomatologiche, irregolarità mestruali o infertilità, osteoartriti e sleep apnea [1]. (Tabella 1)

*Tabella n.1. Caratteristiche Cliniche dell'Acromegalia*

<b>Effetti massa del tumore</b>	Disturbi del sonno
Allargamento dell'ipofisi	Sleep apnea (centrale o ostruttiva)
Difetti del campo visivo	Narcolessia
Paralisi dei nervi cranici (III, IV, VI)	<b>Visceromegalia</b>
Cefalea	Macroglossia
<b>Alterazioni somatiche</b>	Gozzo tiroideo e/o tireopatia nodulare
Allargamento delle estremità acrali (mani e piedi)	Ipertrofia delle ghiandole salivari
Gigantismo	Epatomegalia e Splenomegalia
Prognatismo	Ipertrofia renale
Malocclusione della mandibola	Ipertrofia prostatica
Artralgie ed artriti	<b>Anomalie del sistema Endocrino-Metabolico</b>
Sindrome del tunnel carpale	Irregolarità mestruali
Acroparestesia	Galattorrea
Miopatia prossimale	Riduzione della libido
Protrusione delle bozze frontali	Impotenza
<b>Cute</b>	Livelli di globulina legante gli ormoni sessuali (SHBG)
Iperidrosi	MEN 1 (Iperparatiroidismo, tumori delle isole pancreatiche)

Pelle grassa	Alterata tolleranza ai carboidrati
<b>Apparato gastrointestinale</b>	Alterata glicemia a digiuno
Poliposi del colon	Insulino-resistenza e iperinsulinemia
<b>Sistema Cardiovascolare</b>	Diabete Mellito tipo 2
Ipertrofia del ventricolo sinistro	Ipertrigliceridemia
Ipertrofia simmetrica del setto	Ipercalciuria
Cardiomiopatia	Osteoporosi della colonna dorso-lombare
Ipertensione arteriosa	Bassi livelli di renina
Cardiopatologia congestizia	Incremento dei livelli di aldosterone
<b>Apparato Respiratorio</b>	Livelli di globulina legante la tiroxina

### 1.7 Comorbidità

La prognosi delle malattie associate all'Acromegalia dipende dai livelli di GH prima e durante il trattamento, dai livelli di IGF-1, dall'età del paziente, dalle dimensioni del tumore, dal grado di invasione delle strutture viciniori e dalla durata dei sintomi prima della diagnosi.

Le *anomalie scheletriche* sono le complicanze più rilevanti sul piano della disabilità, poiché compromettono la qualità di vita di questi pazienti. In più del 75% degli acromegalici è presente un'alterazione delle grandi e piccole articolazioni o delle vertebre, ispessimento della cartilagine articolare, calcificazioni periarticolari, osteofitosi e sinoviti. Osteoartrite degenerativa, scoliosi, cifosi e fratture vertebrali si sviluppano in quei pazienti che non controllano adeguatamente la malattia. L'accrescimento dell'osso e l'ispessimento dei tessuti molli porta a un

progressivo intrappolamento dei nervi. La dimensione ossea può influenzare la misurazione della densità minerale ossea (BMD) e l'utilità della dual-energy X ray absorptiometry (DEXA) per lo screening per anomalie in assenza della correzione delle dimensioni non è ben documentata; la radiografia (X-ray) della colonna toracica e lombare può essere usata per la diagnosi di fratture, cifosi, scoliosi, lordosi e altre deformazioni dello scheletro assiale, soprattutto nei pazienti sintomatici. I pazienti con acromegalia dovrebbero essere valutati per i fattori di rischio dell'osteoporosi che includono la carenza di vitamina D, inadeguato introito di calcio, calcio sierico per valutare l'iperparatiroidismo, sovradosaggio dei glucocorticoidi e ipogonadismo [2].

Gli alti livelli di GH e di IGF-1 producono *alterazioni cardiache* sia di tipo strutturale sia di tipo funzionale. Nella malattia non trattata, soprattutto se di lunga data, si assiste allo sviluppo di ipertrofia miocardica concentrica e disfunzione diastolica. A differenza dell'insufficienza cardiaca, l'insufficienza aortica e mitralica, così come pure l'ipertensione, non sono reversibili con l'octreotide [3]. Recenti studi mostrano che la cabergolina non peggiora la prevalenza e l'incidenza dell'insufficienza valvolare e del rimodellamento cardiaco [4].

L'ipertensione, in particolare, interessa più del 40% dei pazienti con acromegalia ed è esacerbata dalla sindrome delle apnee notturne, presente in molti pazienti acromegalici.

Le *disfunzioni respiratorie* possono essere causate dall'ispessimento dei tessuti, polipi nasali, macroglossia e pneumomegalia; nella maggior parte dei pazienti è stata documentata una sleep apnea ostruttiva. L'ispessimento dei tessuti molli e la ridotta capacità respiratoria sono reversibili quando l'ipersecrezione ormonale viene controllata. Le disfunzioni respiratorie comprendono anche alterazioni del

controllo centrale dei centri del respiro e sono attribuite agli effetti del GH sul sistema nervoso [5,6] .

L' *ipogonadismo* interessa approssimativamente il 50% dei pazienti acromegalici, ma è spesso reversibile a meno che si sia verificata una distruzione gonadotropa. La diagnosi biochimica è difficile nei maschi a causa dei bassi livelli di globulina legante gli ormoni sessuali; in questi casi, l'interpretazione dei sintomi clinici e il testosterone biodisponibile sono importanti per la diagnosi. La concomitante iperprolattinemia può essere una causa dell'ipogonadismo. Nelle donne l'ipogonadismo dovrebbe essere valutato attentamente e trattato in modo appropriato, specialmente in età fertile [1].

Il *diabete* si verifica più frequentemente nei pazienti acromegalici rispetto alla popolazione generale ed è un importante fattore predittivo di mortalità in questi pazienti. Un peggioramento dell'intolleranza ai carboidrati si può raramente verificare in coloro che usano analoghi della somatostatina (ma l'iperglicemia si verifica molto più frequentemente con pasireotide rispetto ad altri analoghi) e pegvisomant [7].

Quanto al maggior rischio di *neoplasie* nei pazienti acromegalici rispetto alla popolazione generale, vi sono delle controversie. In uno studio di coorte retrospettivo che esaminava 1362 pazienti acromegalici, l'incidenza complessiva dei tumori maligni era più bassa della popolazione generale [8].; tuttavia, il numero dei morti per carcinoma del colon era più elevato rispetto alla popolazione generale. Altri studi prospettici controllati hanno dimostrato che, sottoponendo a colonscopia questi pazienti, il rischio del carcinoma del colon è circa il doppio rispetto alla popolazione generale, probabilmente per l'effetto dell'IGF-1 sulla proliferazione dell'epitelio cellulare. In ragione di ciò, la colonscopia, come esame di screening, deve essere effettuato alla diagnosi di

acromegalia e il follow-up di questi pazienti deve poi essere fatto secondo le linee guida correnti.

### 1.8 Mortalità

I pazienti acromegalici presentano una mortalità aumentata che si stima tra 1.6 e 3.3 volte maggiore rispetto alla popolazione generale, inoltre hanno una aspettativa di vita ridotta di 10 anni [1]. I fattori che contribuiscono all'incremento della mortalità includono l'ipertensione arteriosa, l'iperglicemia o il diabete mellito, la cardiomiopatia e la sleep apnea. Fattori predittivi indipendenti di una lunga sopravvivenza sono, invece: livelli di GH < 2.5 ng/ml, giovane età, breve durata di malattia e assenza di ipertensione. In alcuni studi gli elevati livelli di IGF-1 sono associati ad una più elevata mortalità, anche se i livelli di GH sembrerebbero essere fattori predittivi di mortalità indipendenti ancor più dell'IGF-1 [1]. In caso coesista l'ipopituitarismo, ed in particolare un'insufficienza surrenalica, il rischio di mortalità è più alto. Quanto alle terapie dell'Acromegalia, il trattamento radiante con radioterapia convenzionale aumenta il rischio complessivo di mortalità poiché potenzialmente causa di ipopituitarismo e malattie cerebrovascolari.

## **2. Diagnosi**

La maggior parte dei pazienti, al momento della diagnosi, presenta le caratteristiche cliniche della malattia (dalle ultime stime vi sarebbe un ritardo diagnostico tra 6 e 10 anni) [9]. La diagnosi biochimica viene fatta valutando la secrezione autonoma del GH insieme alla misurazione dell'IGF-1, quale effetto biologico periferico dell'ipersecrezione di ormone somatotropo. La misurazione di IGF-1 viene richiesta in quei soggetti con tipiche manifestazioni cliniche di

acromegalia, soprattutto quelli con caratteristiche tipiche acrali e facciali, ed a quei soggetti senza le tipiche manifestazioni di acromegalia, ma che hanno molte tra le seguenti condizioni associate: sindrome da apnea del sonno, diabete mellito tipo 2, artrite debilitante, sindrome del tunnel carpale, iperidrosi, e ipertensione. Inoltre il dosaggio sierico di IGF-1 è utilizzato per escludere l'acromegalia in un paziente con una massa ipofisaria.

Si consiglia di basarsi sui livelli di GH random per diagnosticare acromegalia.

Nei pazienti con livelli sierici elevati o equivoci di IGF-1, si conferma la diagnosi con la mancata soppressione di GH <1 mg / l documentata nel corso di un carico orale di glucosio [10,11].

La World Health Organization (WHO) raccomanda che il GH venga espresso in microgrammi/l e che per una migliore misurazione dell'IGF-1 venga dosato l'IGF-1 altamente purificato. L'influenza che il sesso e il Body Mass Index (BMI) esercitano sull'IGF-1 è modesta e non giustifica un aggiustamento dei valori di riferimento. Il test dinamico per la malattia acromegalica è il carico orale di glucosio (test orale di tolleranza glicidica, OGTT), effettuato con 75 grammi di glucosio: durante il test il GH viene dosato sul prelievo basale e poi su prelievi eseguiti ogni 30 minuti per 2 ore [10,11].

Le linee guida attuali (AACE 2011, Consensus 2000 e le linee guida del Novembre 2014)[12] danno importanza al criterio biochimico che si fonda sul cosiddetto *"binario" di Cortina*: per una corretta diagnosi sono necessari sia un valore elevato di IGF-1, sia una mancata soppressione del GH dopo OGTT. A questo proposito, le più recenti linee di consenso sull'Acromegalia [11,12] e le linee guida AACE stabiliscono cut-off più bassi che tengono conto della ultrasensibilità delle metodiche di dosaggio (i vecchi dosaggi RIA ed IRMA sono

stati sostituiti da tecniche di chemiluminescenza come Immunolite, DPC, CA, USA). Il valore soglia del GH durante OGTT è stato portato da 1 µg/l (come stabilito a Cortina) a 0.4µg/l, ciò aumenta la sensibilità del test. I valori del GH e dell'IGF-1 età correlato sono la variabile biochimica più importante per la diagnosi ma anche per il monitoraggio della malattia e per la risposta ai trattamenti.

Se il test con carico orale di glucosio non può essere effettuato perché il paziente è diabetico, è possibile dosare il GH con prelievi seriati ogni 30 minuti in corso di infusione di soluzione fisiologica (sampling).

### 2.1 Diagnosi Biochimica

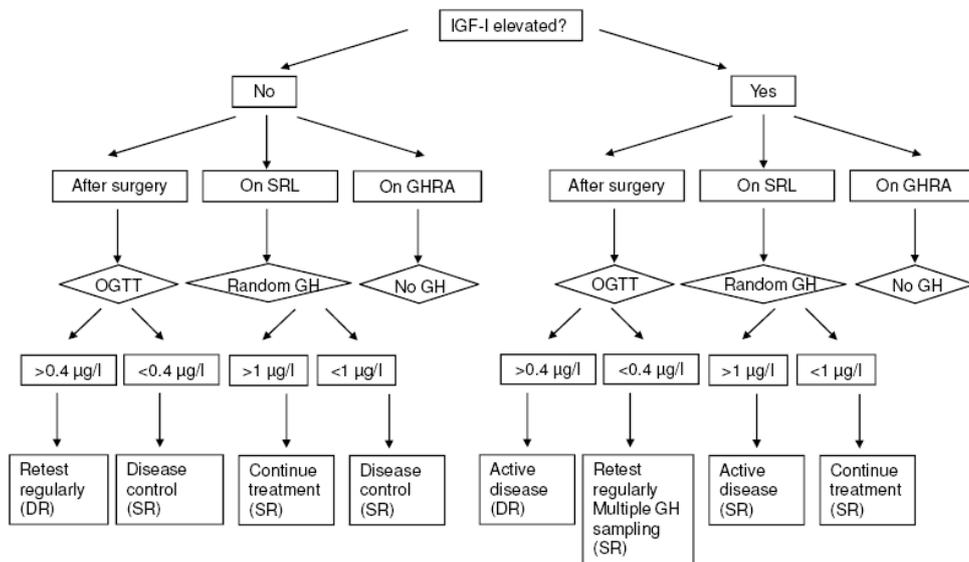
In caso di sospetto clinico di malattia acromegalica si procede al dosaggio del GH e dell'IGF-1. Nonostante l'uso di preparati di riferimento internazionali di GH, i saggi immunologici disponibili in commercio producono valori eterogenei, ed i risultati di un laboratorio non possono essere paragonati con i risultati di un altro. Anche se un elevato livello di GH random è indicativo di acromegalia, singole misurazioni GH random non sono di solito consigliate a causa delle episodiche secrezioni di GH proprie sia delle ghiandole pituitarie normali che adenomatose. Livelli di nadir del GH <1 µg / l entro 2 ore dopo carico di glucosio di solito escludono la diagnosi. Lieve ipersecrezione di GH, con i livelli di GH random <1 µg/l, potrebbe essere associata a livelli sierici lievemente elevati di IGF-1. L'età dello sviluppo, il sesso femminile, l'obesità, e un elevato indice di massa corporea possono essere associati con un'abnorme soppressione di GH post carico orale di glucosio, e vi è la necessità di definire valori normali per queste variabili. Un nadir di GH < 0,4 µg/l dopo un carico orale di glucosio è stato stabilito per escludere la diagnosi.

## **Follow-up: come orientarsi sulla base dei parametri biochimici**

La malattia ha un controllo ottimale se:

- Dopo neurochirurgia e/o radioterapia il nadir del GH durante OGTT è  $\leq 0.4\mu\text{g/l}$  con l'IGF-1 nei limiti di riferimento per età, (nei pazienti sottoposti ad asportazione dell'adenoma l'IGF-1 non dovrebbe essere dosato prima di 3-6 mesi dall'intervento e se, dopo 3-6 mesi, l'IGF-1 risulta ancora elevato, per completezza possono essere effettuati: OGTT per GH, dosaggi seriati del GH, una misurazione random del GH, tenendo in considerazione i cut-off già indicati) [11] (Figura n.4);
- In trattamento con dopamino-agonisti e/o SSA il GH random è  $\leq 1\mu\text{g/l}$  con l'IGF-1 nei limiti di riferimento per età, (questi due dosaggi sono sufficienti per il monitoraggio della malattia, l'OGTT potrebbe non essere d'aiuto in corso di terapia medica [7]. Quando viene iniziato il trattamento con SSA long-acting, l'IGF-1 non ha una rilevanza biochimica prima di 3 mesi dall'inizio della terapia e sono necessari non meno di 6 mesi per assistere al declino dei valori del GH e dell'IGF-1 (AACE);
- In corso di trattamento con l'agonista recettoriale del GH (Pegvisomant) l'IGF-1 è nei limiti di riferimento per età (solo l'IGF-1 deve essere misurato).

*Figura n.4 Follow-up dopo/durante trattamento [8]*



### Le variabili biochimiche di GH e IGF-1: da caso a caso

La soppressione del GH durante OGTT può essere ridotta nei pazienti epatopatici, nella malnutrizione o nell'anoressia, nelle donne in gravidanza o in trattamento con estrogeni.

Se il test con carico orale di glucosio non può essere effettuato perché il paziente è diabetico, è possibile dosare il GH con prelievi seriati ogni 30 minuti in corso di infusione di soluzione fisiologica (sampling). Tuttavia, devono essere considerati alcuni fattori capaci di influenzare il dosaggio del GH; l'ormone somatotropo ha una secrezione pulsatile, è capace di aumentare durante il sonno, risente dell'età e dello stato nutrizionale del paziente. Inoltre, il 50-60% dei pazienti acromegalici mostra un aumento anormale o "paradosso" dei livelli di GH (> 50% rispetto al basale e di almeno 6 µg/l in valore assoluto) dopo somministrazione di TRH e/o GnRH o dopo somministrazione di un antidopaminergico, la sulpiride, in corso di infusione di dopamina: questi test stimolatori non sono più raccomandati per la maggiore sensibilità delle attuali metodiche di dosaggio [10,11].

Una discrepanza tra valori del GH particolarmente bassi e valori di IGF-1 elevati può interessare fino al 30% dei pazienti acromegalici dopo il trattamento. Nelle linee di consenso del 2010 [11] vengono individuate diverse cause: emivita e pulsatilità dell'ormone, età, comorbidità, variabilità genetica. Un altro fenomeno recentemente introdotto per spiegare questa discrepanza è quello del polimorfismo recettoriale: il recettore che esprime il polimorfismo è più sensibile al GH e quindi, a parità di livelli di GH circolante, il soggetto con il recettore polimorfico ha valori di IGF-1 maggiori. In alcuni casi, al contrario, si può assistere ad elevati livelli di GH e normali livelli di IGF-1 per la stessa ragione. Ricordiamo che anche dopo radioterapia si può osservare un elevato IGF-1 e un valore basso di GH, poiché il trattamento radioterapico provoca un appiattimento del pattern secretivo. Inoltre, i preparati estrogenici orali, ma non transdermici, riducono le concentrazioni dell'IGF-1; per questo, l'interpretazione dei livelli di IGF-1 nelle donne in trattamento con estrogeni deve essere fatta con cautela. L'IGF-1 è basso anche nei pazienti con disordini gastrointestinali, insufficienza epatica o renale, ipotiroidismo e diabete mellito tipo 1 non controllato. Come già detto, in corso di terapia con Pegvisomant l'unico parametro ormonale utile al monitoraggio della malattia è l'IGF-1.

Nel follow-up del paziente acromegalico guarito con trattamento chirurgico, l'IGF-1 dovrebbe essere misurato ogni anno per le possibili recidive riportate anche 10 o 20 anni dopo l'intervento [11].

## 2.2 Diagnosi strumentale

Una volta confermata la diagnosi biochimica di acromegalia, le linee guida raccomandano l'esecuzione di un esame di risonanza magnetica ipofisaria (RM) per individuare l'adenoma ipofisario, causa di acromegalia nel 95% dei casi [18]. La RM è l'opzione migliore per valutare le dimensioni, la posizione e l'invasività

dell'adenoma, mentre la tomografia computerizzata (TC), dato che è meno sensibile, viene utilizzata solo in caso di controindicazioni o di mancata disponibilità della RM.

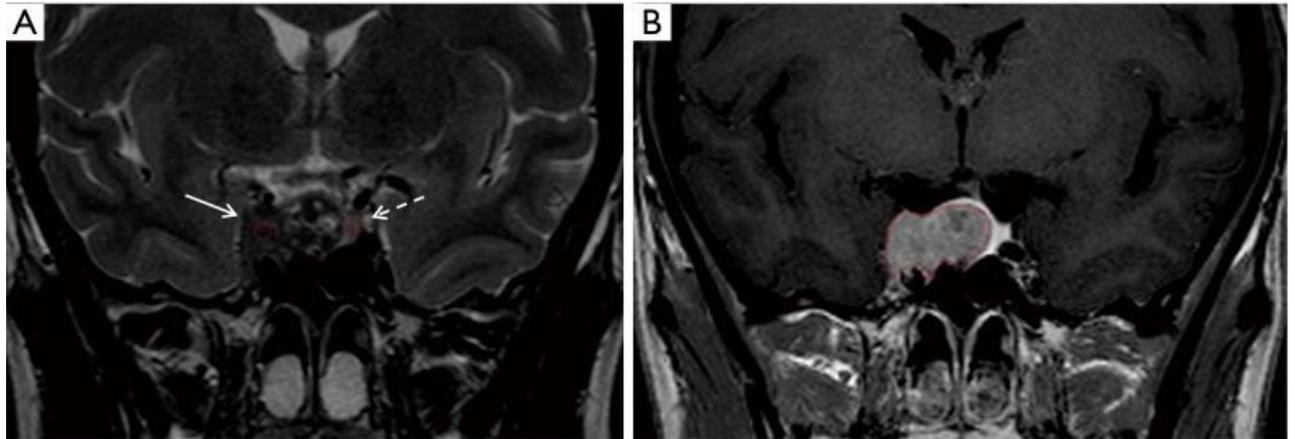
Le risonanze magnetiche utilizzate per la diagnosi di adenomi ipofisari secernenti GH sono generalmente eseguite a 1,5 Tesla (T) o 3T, benché alcuni centri utilizzino campi magnetici più alti come 7T o 9,4T [25]. L'uso di campi magnetici più elevati consente di ottenere immagini con maggiore risoluzione spaziale e contrasto, ma è limitato dalla disponibilità di strumentazione specializzata e dalla necessità di evitare effetti avversi sulla salute del paziente come sensazione di calore, dolore, vertigini, nausea e altri sintomi, dovuti alla dissipazione di energia causata dal campo magnetico ad alto campo. Tuttavia, questi effetti sono generalmente considerati lievi e temporanei [26]. In generale, il campo magnetico utilizzato dipende dalle specifiche della macchina e dalle preferenze del radiologo o del neurochirurgo che esegue l'esame.

La RM può essere eseguita utilizzando diverse sequenze, tra cui la sequenza T1 e la sequenza T2. La sequenza T1 permette di visualizzare i tessuti molli in modo dettagliato e di distinguere tessuti diversi sulla base delle loro proprietà magnetiche, mentre la sequenza T2 è più sensibile alle alterazioni patologiche dei tessuti, come la presenza di liquido o di substrato edematoso.

Per la diagnosi di adenomi ipofisari secernenti GH, la sequenza T1 con mdc (mezzo di contrasto) è spesso utilizzata per migliorare la visualizzazione dei tessuti e delle lesioni. Il mdc solitamente utilizzato è il gadolinio, un composto chimico che si lega alle proteine del sangue e aumenta il contrasto tra le aree patologiche e quelle normali.

In particolare, l'utilizzo della sequenza T1 con mdc permette di identificare la presenza di adenomi ipofisari secernenti GH attraverso la valutazione della

morfologia dell'enhancement, ovvero dell'aumento di intensità del segnale nella regione in cui si trova il tumore a seguito dell'iniezione del mdc (Figura 5) [25].



*Figura 5* Caratteristiche dell'adenoma in base all'intensità del segnale. (A) Immagine coronale pesata in T2. Macroadenoma secernente GH infiltrante il seno cavernoso destro: confronto tra il livello medio di intensità della porzione solida dell'adenoma (freccia bianca) con il livello di intensità media della ghiandola pituitaria sana (freccia bianca tratteggiata); (B) Immagine coronale pesata in T1 dopo iniezione endovenosa con mezzo di contrasto (acquisizione dinamica tardiva): segmentazione manuale dell'intero adenoma. Confronto dell'immagine coronale pesata in T2 con l'immagine coronale dinamica tardiva, al fine di garantire che la porzione adenomatosa analizzata sia prevalentemente solida ed evitare il campionamento delle porzioni colliquative o cistiche. GH, ormone della crescita. Tortora F, Negro A, Grasso LFS, Colao A, Pivonello R, Splendiani A, Brunese L, Caranci F. Pituitary magnetic resonance imaging predictive role in the therapeutic response of growth hormone-secreting pituitary adenomas. *Gland Surg.* 2019 Sep;8(Suppl 3):S150-S158. doi: 10.21037/g.2019.06.04. PMID: 31559182; PMCID: PMC6755952.

Pertanto, la RM con mdc è una tecnica di imaging utile nella diagnosi di adenomi ipofisari secernenti GH, poiché permette di visualizzare con elevata sensibilità e specificità la morfologia e l'enhancement del tumore.

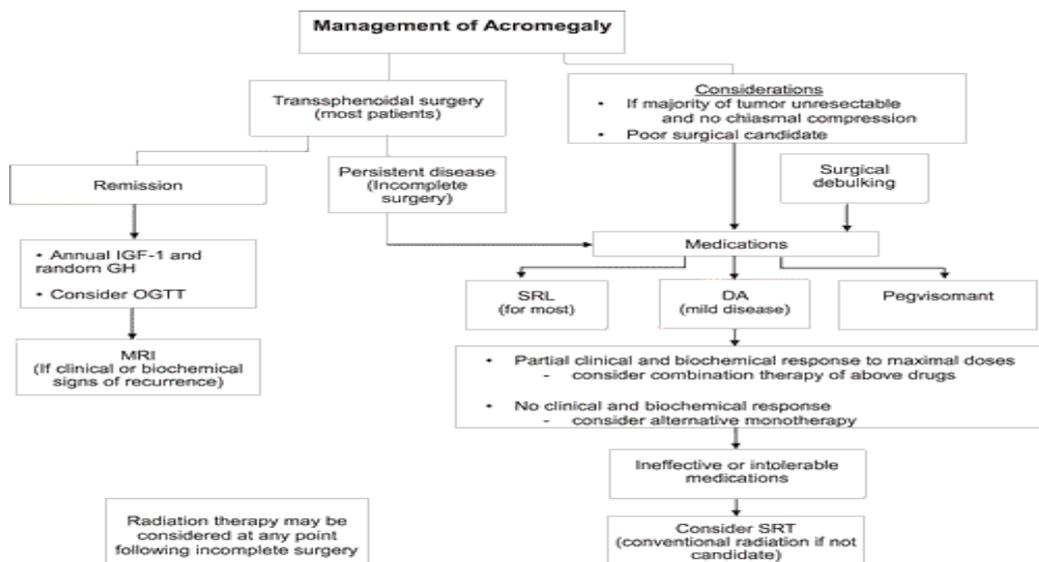
In aggiunta a quanto appena descritto, se la RM rivela la presenza di un macroadenoma soprasellare, ovvero un tumore con estensione superiore al solco della sella turcica, è necessario eseguire un esame del campo visivo per valutare la possibile compressione del chiasma ottico da parte dell'adenoma, causa frequente di deficit visivo.

Come riportato nello studio di Lonser *et al.*, il 3,2% dei pazienti (6 su 190) con acromegalia non presenta un tumore ipofisario evidente alla risonanza magnetica standard [27].

Questi pazienti fanno parte di quella piccola percentuale di acromegalici con secrezione extra-ipofisaria di GH o GHRH, nei quali è opportuno ricorrere al dosaggio dei livelli sierici di GHRH e richiedere l'esecuzione di una TC del torace e dell'addome al fine di individuare la causa ectopica di secrezione anomala [27].

### 3. Trattamento (Figura n. 6)

Figura n 6. Questo approccio si riferisce alla gestione di un paziente con un adenoma ipofisario [12]



Il trattamento dell'Acromegalia può essere di tipo chirurgico, farmacologico e/o radioterapico. Tutti gli approcci terapeutici alla malattia acromegalica hanno vantaggi e svantaggi.

### 3.1 Chirurgia

L'approccio neurochirurgico è indicato come trattamento di prima scelta negli adenomi ipofisari GH secernenti oppure per la decompressione rapida da effetto massa provocato da una lesione ipofisaria. Nei pazienti con microadenomi (<10 mm di diametro) e livelli di GH inferiori a 40 µg/l la chirurgia transfenoidale ha successo terapeutico nell'80% dei casi. Al contrario, i tumori che invadono il seno cavernoso non possono essere completamente asportati e in questi pazienti l'ipersecrezione ormonale di GH persiste nel postoperatorio (Tabella n.2).

In caso di macroadenomi GH secernenti il successo dell'intervento chirurgico, praticato da neurochirurghi esperti (che eseguono almeno 50 interventi/anno sull'ipofisi per via transfenoidale), si attesta al 50%. L'intervento non è indicato come prima linea terapeutica se il tumore non appare resecabile, purché non provochi effetto massa, o nel caso in cui il paziente rifiuti la chirurgia. Talvolta, il trattamento farmacologico può essere utilizzato come neoadiuvante alla chirurgia al fine di migliorare la funzionalità respiratoria, l'ipertensione e lo scompenso cardiaco. L'uso routinario della terapia medica preoperatoria può migliorare il controllo biochimico dopo l'intervento chirurgico. Una ripetizione della terapia chirurgica può essere considerata in un paziente con malattia residua intrasellare dopo l'intervento chirurgico iniziale [12].

In un paziente con malattia extrasellare in cui è improbabile un intervento chirurgico di resezione totale, è in ogni caso considerato un debulking chirurgico per migliorare la successiva risposta alla terapia medica [12].

Per i pazienti con grave spessore faringeo e apnea del sonno, o insufficienza cardiaca ad alta portata, si consiglia la terapia medica con analoghi della somatostatina prima dell'intervento chirurgico per ridurre il rischio di gravi comorbidità. Le più moderne tecniche chirurgiche, l'uso del neuronavigatore e

L'approccio endoscopico hanno contribuito a migliorare l'outcome del paziente acromegalico sottoposto ad intervento. In mani esperte, l'approccio neurochirurgico è generalmente efficace e sicuro. Sebbene il 10% dei tumori recidivi, molte recidive probabilmente sono da considerarsi ripresa di malattia su residui adenomatosi non completamente asportati. In uno studio [13] , l'adenoipofisectomia si associa ad un ipopituitarismo transitorio o permanente in più del 30% dei pazienti operati. Altri effetti collaterali sono l'insorgenza del Diabete Insipido (3%) e le complicanze locali (5%).

#### *Post operatorio*

Dopo l'intervento chirurgico, si misurano il livello di IGF-1 e GH e a 12 settimane o più tardi, le nuove linee guida suggeriscono anche di misurare il livello di GH nadir dopo un carico di glucosio in un paziente con un GH superiore a  $1 \mu\text{g} / \text{L}$  [12].

Un nuovo studio di imaging si esegue almeno 12 settimane dopo l'intervento chirurgico per visualizzare un eventuale residuo e le strutture adiacenti. La RM rimane sempre la metodica di imaging di prima scelta seguita dalla TC quando la risonanza magnetica è controindicata o non disponibile [12].

### 3.2 Radioterapia

La Radioterapia è stata storicamente il primo trattamento efficace per la cura dell'Acromegalia (Beclere 1909). Sia la forma convenzionale che la forma stereotassica sono utilizzate come terapia di terza linea nei tumori che presentano una recidiva o una ripresa di malattia dopo chirurgia e che hanno una resistenza o un'intolleranza ai trattamenti farmacologici. Queste evenienze sono frequenti

nei pazienti giovani con tumori ipofisari più estesi e aggressivi, nei quali la chirurgia non è radicale e i livelli di GH e IGF-1 non sono controllati dalla terapia medica. Esistono due principali forme di RT per il trattamento dei pazienti acromegalici: la RT convenzionale e la radiochirurgia stereotassica. E' indiscusso l'uso della radioterapia stereotassica (SRT) rispetto alla radioterapia convenzionale nei pazienti con acromegalia, a meno che la tecnica non sia disponibile, vi sia una significativa massa tumorale residua, o il tumore è troppo vicino al chiasma ottico risultando un'esposizione di oltre 8 Gy [12]. La RT tradizionale, più utilizzata in passato, viene praticata mediante irradiazione esterna con Itrio 90, protoni o particelle alfa. Molti centri attualmente utilizzano la radiochirurgia stereotassica che permette di concentrare su un bersaglio ben definito un fascio di radiazioni a più alto dosaggio. Al confronto con la radioterapia convenzionale, la terapia stereotassica ha il vantaggio di una più rapida inibizione sulla crescita tumorale e sulla secrezione di GH, bassa incidenza di ipopituitarismo, minor danno ai tessuti circostanti. Ci sono 2 principali varianti di radioterapia stereotassica: una utilizza come sorgente radioattiva il cobalto (gamma Knife), l'altra un acceleratore lineare. Una limitazione di questa metodica è la vulnerabilità delle strutture adiacenti alla ghiandola ipofisaria, in particolare il tratto ottico (la RT è controindicata se il tumore è a meno di 5 mm dal chiasma). Le avanzate tecniche computerizzate di imaging permettono di raggiungere con precisione il target tumorale, minimizzando il rischio di irradiazione delle strutture circostanti e riducendo i tempi di trattamento.

Dopo radioterapia i livelli di IGF-1 si riducono molto lentamente; il controllo della malattia può essere ottenuto anche 15 anni dopo la terapia convenzionale, più rapida è l'azione della RT stereotassica che dà risultati già dopo 2 anni dal trattamento, il follow-up comunque richiede tempi più lunghi. Entro 10 anni

circa il 50% dei pazienti può sviluppare un ipopituitarismo con interessamento di uno o più ormoni ipofisari senza differenze significative a lungo termine tra le varie forme di radioterapia; tuttavia, l'incidenza e la severità dell'ipopituitarismo è dose dipendente [14]. È stato riportato un aumentato rischio di secondi tumori o di eventi cerebrovascolari dopo radioterapia.

Per monitorare l'efficacia della terapia radiante, si consiglia annualmente il monitoraggio di GH / IGF-1 in accordo con la somministrazione dei farmaci.

Si consiglia un test ormonale annuale dei pazienti dopo RT per ipopituitarismo e altri effetti ritardati delle radiazioni [12].

### 3.3 Terapia medica

Riguardo alla terapia medica le ultime linee guida la consigliano in un paziente con malattia persistente dopo l'intervento chirurgico.

In un paziente con malattia significativa (vale a dire, con segni e sintomi di GH in eccesso da moderati a gravi e senza effetti massa locali), si suggerisce l'utilizzo di uno tra analoghi della somatostatina o pegvisomant come terapia medica adiuvante iniziale.

In un paziente con solo modeste elevazioni di IGF-1 e segni e sintomi lievi di GH in eccesso, si consiglia una prova con un agonista della dopamina, di solito cabergolina, come terapia medica adiuvante iniziale [12].

I farmaci che agiscono sui recettori della somatostatina, come Octreotide e Lanreotide, sono stati largamente utilizzati per il trattamento dell'Acromegalia negli ultimi 20-30 anni. Queste molecole legano i recettori della somatostatina inibendo la secrezione di GH e la proliferazione delle cellule somatotrope. Sono attualmente in studio nuovi analoghi della somatostatina (SSA) ad azione panselettiva, monoselettiva e chimerica. In aggiunta, è disponibile da qualche

anno un antagonista recettoriale del GH che agisce perifericamente bloccando la sintesi di IGF-1. Sebbene le cellule somatotrope esprimano recettori D2 per la dopamina, i dopamino-agonisti non sono efficaci sul controllo della malattia come gli altri farmaci attualmente in uso.

### Analoghi della Somatostatina

L'azione della somatostatina è mediata da 5 sottotipi recettoriali (SST1, SST2, SST3, SST4, SST5), differentemente espressi nei vari tessuti e responsabili di una specificità sia funzionale sia terapeutica ligando-indotta. Le cellule somatotrope esprimono prevalentemente SST2 e SST5 e la loro attivazione inibisce la secrezione del GH. Poiché in più del 90% degli adenomi GH secernenti sono espressi i suddetti sottotipi recettoriali ad alto titolo, l'utilizzo degli analoghi della somatostatina, come Octreotide e Lanreotide, che legano in modo selettivo SST2 e SST5, rappresentano una valida scelta terapeutica. Le preparazioni a rilascio modificato (depot) consentono una somministrazione ogni 14-28 giorni per via intramuscolare e la loro formulazione mantiene a lungo elevati i livelli di farmaco in circolo. Alcuni studi retrospettivi dimostrano che l'80% dei pazienti in terapia con SSA mantiene livelli di GH <2.5ng/ml e livelli di IGF-1 nella norma. Nelle più recenti linee guida dell'AACE la normalizzazione dell'IGF-1 e del GH in corso di terapia con SSA è stimata nel 55% dei pazienti [15].

Octreotide LAR e LanreotideAutogel hanno un profilo di efficacia simile. Il successo della terapia con Octreotide e Lanreotide è funzione dei livelli di GH prima del trattamento, della presenza o assenza di recettori SST2 e SST5 sulla massa tumorale, della dose del farmaco, della compliance del paziente alla terapia. Con gli SSA la riduzione della massa adenomatosa (*shrinkage*) si verifica in circa il 50% dei casi (dal 25 al 70%, AACE) ma, quando il trattamento viene sospeso, si può assistere nuovamente all'aumento dell'adenoma. Il debulking chirurgico dei macroadenomi si può giovare di un trattamento neoadiuvante con

analoghi della somatostatina al fine rendere più completa l'asportazione della massa. In più dell'80% dei pazienti trattati è descritta un miglioramento dei sintomi come la cefalea e una riduzione dell'edema tissutale periferico. L'utilizzo degli analoghi è indicato in caso di fallimento biochimico della chirurgia ipofisaria, così come pure dopo terapia radiante per garantire bassi livelli di GH e IGF-1 in attesa che si manifestino gli effetti della radioterapia stessa. Octreotide e Lanreotide sono indicati come trattamento di prima scelta nel caso di macroadenomi ipofisari GH secernenti con estensione soprasellare senza effetti compressivi centrali, nei pazienti non candidabili alla chirurgia e in coloro che rifiutano l'intervento.

Non ci sono dati certi per sostenere che un trattamento di breve durata con SSA pre-chirurgico migliori il risultato dell'intervento; tuttavia, è stata descritta una riduzione del rischio anestesiológico in quei pazienti in cui l'intervento chirurgico può essere posticipato. Nei 2/3 dei pazienti acromegalici con ipogonadismo, il trattamento con gli analoghi ripristina l'eugonadismo. Il trattamento con SSA è lungo e costoso; gli effetti collaterali legati alla loro somministrazione sono diarrea, nausea, dolore addominale (che tipicamente si risolvono entro 8-10 settimane), perdita di capelli, bradicardia, iperglicemia e calcolosi della colecisti (che di solito si sviluppa dopo 18 mesi dall'inizio della terapia nel 20% dei casi). L'instaurarsi di tali effetti collaterali non giustifica comunque la sospensione della terapia ma le complicanze vanno gestite secondo le linee guida correnti. Le ultime linee guida suggeriscono un'ecografia addominale di routine per monitorare la colelitiasi in un paziente trattato con un analogo della somatostatina. L'ecografia deve essere eseguita sempre se il paziente presenta segni e sintomi di calcolosi biliare. Negli ultimi anni la ricerca farmaceutica ha portato allo sviluppo di molecole in grado di ampliare lo spettro recettoriale d'azione. Il Pasireotide (SOM 230) è un ligando universale dei

recettori della somatostatina in grado di legare i sottotipi recettoriali 1, 2, 3 e 5 con elevata affinità. È, cioè, in grado di agire anche sui tumori che non esprimono o esprimono in piccole quantità il recettore SST2 e che risultano resistenti all'Octreotide. Inoltre, il legame a più recettori potrebbe facilitare un processo di cooperazione recettoriale con potenziamento degli effetti biologici. Un altro risultato della ricerca farmaceutica riguardante gli SSA è rappresentato dalla produzione di molecole chimeriche capaci di legare sia il sottotipo 2 del recettore per la somatostatina sia i recettori D2 per la dopamina. Gli agonisti della dopamina hanno un'efficacia molto bassa se somministrati in monoterapia poiché normalizzano la secrezione di GH e IGF-1 in una piccola percentuale di pazienti, tuttavia rappresentano gli unici farmaci potenzialmente utili nel controllo dell'Acromegalia che non necessitano di somministrazione parenterale. La loro formulazione chimerica potrebbe sfruttare gli effetti recettoriali sinergici e, in particolare, potrebbe consentire un aumento di efficacia a più basso dosaggio e a più basso costo. Si consiglia inoltre di intraprendere una terapia con pegvisomant o cabergolina in un paziente con risposta inadeguata ad una SSA.

### Pegvisomant

Il Pegvisomant è un analogo peghilato dell'ormone della crescita umano, frutto dell'ingegneria genetica che ha modificato selettivamente la struttura aminoacidica del GH producendo una molecola strutturalmente analoga ma funzionalmente opposta. Questo farmaco è in grado di legare con alta affinità i recettori cellulari per il GH, bloccando così l'attivazione di tutta quella serie di meccanismi molecolari che si traducono nella sintesi dell'IGF-1. Il suo utilizzo è indicato nei pazienti con resistenza o intolleranza agli analoghi della somatostatina. Alcuni studi riportano che il 30% di pazienti acromegalici [10,16-17] non risponde in modo ottimale al trattamento chirurgico e/o con SSA; in questi casi si rende necessario l'utilizzo del GH antagonista. Il farmaco

non deve essere utilizzato in presenza di adenomi ipofisari con effetti compressivi centrali, mentre è indicato in caso di diabete mellito resistente. È molto costoso. Somministrato per via sottocutanea, un dosaggio di 40 mg/die blocca la sintesi di IGF-1 nel 90% dei pazienti. La somministrazione combinata di Pegvisomant e analoghi della somatostatina è in grado di inibire la produzione dell'IGF-1, ridurre l'intolleranza glicidica e consente di utilizzare l'analogo recettoriale del GH a dosaggi più bassi. Il marker biochimico utilizzato per monitorare l'effetto terapeutico del Pegvisomant è l'IGF-1, i livelli di GH, infatti, in questi pazienti possono essere elevati. Un effetto collaterale legato alla somministrazione di questo farmaco è l'ipertransaminasemia (prevalentemente transitoria) e, per tale ragione, i test di funzionalità epatica dovrebbero essere effettuati mensilmente per i primi 6 mesi, poi ogni 6 mesi in corso di terapia e prendere in considerazione l'interruzione del pegvisomant se le transaminasi sono superiori a 3 volte i valori normali. Imaging di serie con risonanza magnetica sono necessarie per valutare le dimensioni del tumore in un paziente in terapia con pegvisomant. La risonanza magnetica dell'ipofisi dovrebbe essere effettuata dopo 6 mesi dall'inizio del trattamento al fine di escludere la crescita dell'adenoma.

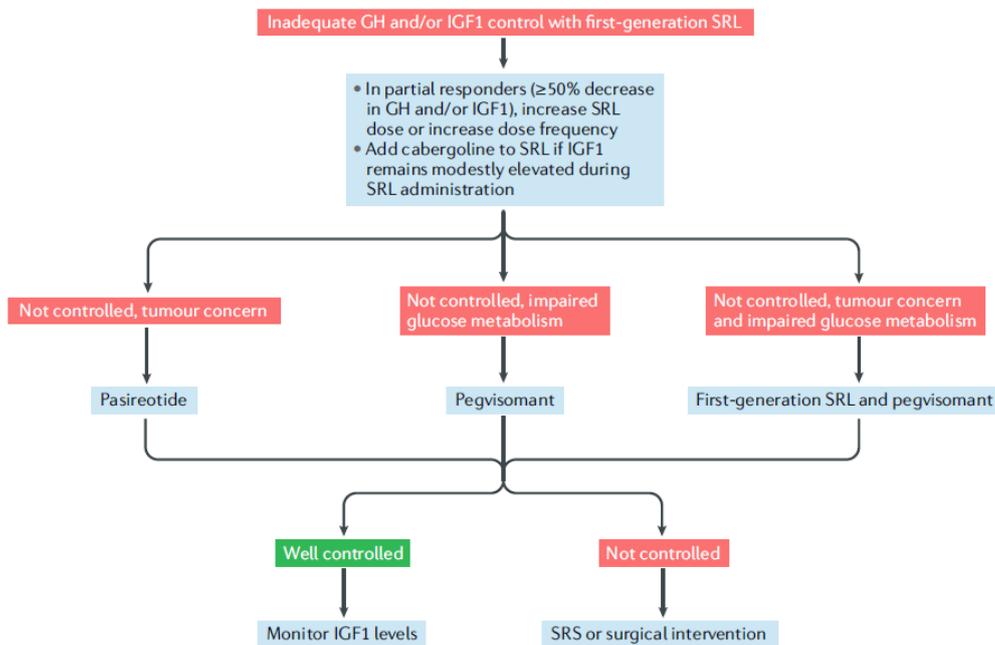
### Dopamino-agonisti

La Cabergolina ad alte dosi, come già detto, è in grado di produrre un controllo parziale della malattia; la sua efficacia aumenta se somministrata in associazione con gli SSA nei pazienti con secrezione mista di GH e Prolattina. Inoltre, la co-somministrazione di dopamino-agonisti e analoghi della somatostatina può indurre una risposta nei pazienti acromegalici resistenti ai dosaggi massimali di Octreotide o Lanreotide.

La nuova consensus [18]  
Per i pazienti con malattia persistente dopo l'intervento chirurgico, è

raccomandato come terapia di prima linea un analogo della somatostatina a lunga durata d'azione (SRL). Se presente un tumore residuo clinicamente rilevante non adatto alla resezione chirurgica, pazienti non adeguatamente controllati con SRL di prima generazione potrebbe essere preso in considerazione il pasireotide con analogo a lunga durata d'azione. Qualora ci fosse una preesistente, rilevante alterazione del metabolismo del glucosio, i pazienti non adeguatamente controllati con SRL di prima generazione dovrebbe essere indirizzati al pegvisomant (Figura n.7).

Figura n.7 Consensus Trattamento Acromegalia



### 3.4 Monitoraggio clinico e target terapeutico

La prolungata esposizione all'ipersecrezione di GH e IGF-1 produce un danno strutturale e funzionale dei tessuti, promuovendo lo sviluppo di complicanze sistemiche. Gli obiettivi terapeutici dell'Acromegalia prevedono il controllo biochimico di malattia, che si traduce nella normalizzazione del GH e/o dell'IGF-

1, il controllo delle dimensioni del tumore e la sua eventuale crescita, il controllo della funzionalità ipofisaria residua e il monitoraggio delle complicanze. Il controllo di malattia ha come obiettivo un valore di IGF1 paragonabile a un soggetto normale di pari età del nostro paziente.

Le linee guida indicano anche un GH random  $<1.0 \mu\text{g} / \text{L}$  come obiettivo terapeutico, in quanto questo è correlato con il controllo di acromegalia [12].

E' importante mantenere la stessa modalità di misurazione del GH e IGF-1 nello stesso paziente durante la gestione.

In caso di guarigione, con normalizzazione biochimica e clinica, i pazienti dovrebbero essere sottoposti annualmente ad una RM ipofisaria, indipendentemente dal trattamento occorso. La persistenza di elevati livelli di GH, pur in presenza di una normalizzazione dei livelli di IGF-1, è predittiva di una ripresa di malattia. Per i pazienti che, invece, hanno elevati valori di GH e di IGF-1, anche in assenza di segni clinici, è necessario dare inizio ad una terapia ed eseguire un monitoraggio annuale della crescita tumorale mediante RM ipofisaria. Nei pazienti sintomatici il trattamento deve essere iniziato ed eventualmente modificato fino al controllo dei sintomi. Il monitoraggio del paziente acromegalico deve, inoltre, prevedere: il controllo della riserva ipofisaria, la funzione cardiovascolare (che comprende l'ecocardiografia con doppler), la funzionalità respiratoria, il controllo glicemico, le complicanze reumatologiche. Ne consegue che la gestione dell'Acromegalia coinvolge un team multidisciplinare al quale prendono parte anche il chirurgo maxillo-facciale e lo psicoterapeuta.

Si devono valutare tutti i pazienti che si presentano con acromegalia per comorbidità associate, tra cui l'ipertensione, il diabete mellito, le malattie cardiovascolari, l'artrosi, e apnea del sonno. Si consiglia, inoltre, che tali

comorbidità siano longitudinalmente monitorate e rigorosamente gestite.  
(Raccomandazione Ungraded)

Si consiglia, inoltre lo screening per neoplasia del colon con colonscopia al momento della diagnosi, una ecografia tiroidea, se vi è palpabile nodularità tiroide e infine valutare il paziente per un eventuale ipopituitarismo e quindi terapia sostitutiva dei deficit ormonali [12].

### 3.5 Fattori prognostici sfavorevoli nell'Acromegalia

Tabella n.2

*Fattori predittivi di persistenza di malattia dopo chirurgia e/o in seguito a trattamento farmacologico*

giovane età alla diagnosi
alta espressione degli indici di proliferazione (Ki67, p53, gene di trasformazione del tumore ipofisario PTTG)
adenomi scarsamente granulati (iperintensi nelle immagini T2 pesate della RM ipofisi)
adenomi molto grandi, invasivi e con crescita aggressiva
assenza di pregressa radioterapia (soprattutto nei pazienti in terapia con Pegvisomant)
precedente terapia con SSA non ottimale
bassa densità dei sottotipi recettoriali per la somatostatina SST2
elevati livelli di GH e IGF-1 per lungo tempo
grande residuo adenomatoso dopo l'intervento

#### **4. Gestione delle complicanze dell'Acromegalia**

Come già detto, gli acromegalici presentano numerose complicanze che contribuiscono ad aumentarne la mortalità; tra le complicanze di maggior rilievo sul piano clinico vi sono l'ipertensione arteriosa, l'iperglicemia o il diabete mellito, la cardiomiopatia e la sleep apnea.

##### 4.1 Complicanze cardiovascolari

Il cuore ed i vasi rappresentano un bersaglio importante dell'azione del GH e dell'IGF-1. L'IGF-1, in vitro, è in grado di stimolare la proliferazione dei cardiomiociti inibendone nel contempo l'apoptosi [19-21]. Il GH e l'IGF-1, inoltre, svolgono un'azione di stimolo sulla contrattilità miocardica, aumentando il contenuto di calcio e incrementando la sensibilità dei miofilamenti al calcio stesso. Il GH svolge anche un'azione di stimolo sulla funzione endoteliale e sulla produzione di ossido nitrico, mentre l'IGF-1 è in grado di stimolare la proliferazione delle cellule muscolari lisce della parete vascolare. In presenza di un eccesso di GH e IGF-1, si sviluppano alterazioni funzionali e strutturali a carico del sistema cardiovascolare che risultano essere la principale causa di morte nei pazienti affetti da Acromegalia (50-60% dei casi). Tra le complicanze cardiovascolari più rilevanti sul piano clinico ricordiamo l'ipertensione arteriosa, la miocardiopatia acromegalica e le aritmie.

*L'ipertensione arteriosa* ha un'alta prevalenza nei pazienti con Acromegalia, presentandosi in più del 40% dei casi. Il trattamento dell'ipertensione si giova di farmaci antiipertensivi e la scelta del farmaco è analoga ai pazienti non acromegalici [22]. Tra i vari fattori che contribuiscono alla patogenesi dell'ipertensione nel paziente acromegalico ricordiamo l'espansione del volume ematico sodio-dipendente e l'incremento delle resistenze periferiche. La sleep

apnea, presente nella maggior parte dei casi, aumenta ulteriormente l'ipertensione, soprattutto notturna.

Oltre all'ipertensione e al danno vascolare, gli acromegalici sono a rischio di sviluppare una *cardiomiopatia ipertrofica* con caratteristiche cliniche ed istopatologiche particolari. La cardiomiopatia acromegalica evolve attraverso 3 stadi [23]: nello stadio iniziale (tipico dei pazienti giovani con breve durata di malattia) si configura una sindrome ipercinetica con frequenza cardiaca elevata a riposo e un'aumentata gittata sistolica; nello stadio intermedio (presente negli adulti alla diagnosi di malattia) si osserva una ipertrofia ventricolare, sia concentrica, sia eccentrica, che causa una disfunzione diastolica a riposo; nell'ultimo stadio si assiste ad una compromissione sisto-diastolica con rischio di scompenso cardiaco congestizio (Tabella 3). Da un punto di vista anatomicopatologico, la cardiomiopatia acromegalica si caratterizza per fibrosi interstiziale a volte maggiore di quella osservata in altre malattie cardiache croniche ipertrofizzanti e per la presenza di un infiltrato infiammatorio linfo-monocitario. Quest'ultimo è dovuto all'incremento del processo apoptotico che si verifica, contrariamente alla prima fase, nello stadio avanzato di malattia. Per tutte queste ragioni il monitoraggio ecocardiografico è raccomandato sin dalla diagnosi di Acromegalia. Il trattamento della malattia acromegalica migliora la cardiomiopatia di grado lieve e moderato poiché corregge l'ipertrofia miocardica e la disfunzione cardiaca. Il recupero della cardiomiopatia dipende dall'età del paziente, dalla presenza di ipertensione e dalla durata di malattia. Dati recentemente pubblicati (4) dimostrano che la cabergolina non aggrava la prevalenza e l'incidenza di insufficienza valvolare comunemente presente nell'acromegalico, mentre gli analoghi della somatostatina possono provocare bradicardia [24].

Le *aritmie* sono difficilmente controllabili nel paziente acromegalico e sono correlate alle alterazioni strutturali a carico del miocardio. Il follow-up cardiologico del paziente acromegalico include: l'elettrocardiogramma (ECG), l'ecocardiografia doppler, la misurazione della pressione arteriosa e la polisonnografia per lo studio della sleep apnea.

Tabella n.3 Cardiomiopatia Acromegalica (FC: frequenza cardiaca; GS: gittata sistolica)

Stadio iniziale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• colpisce i giovani con breve durata di malattia</li> <li>• causa una sindrome ipercinetica (↑ FC a riposo e ↑ GS)</li> <li>• ridotta tolleranza all'esercizio fisico</li> <li>• disfunzione diastolica iniziale</li> </ul>
Stadio intermedio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• colpisce gli adulti alla diagnosi di malattia</li> <li>• ipertrofia ventricolare concentrica ed eccentrica</li> <li>• disfunzione diastolica a riposo</li> <li>• ridotta funzione sistolica durante l'esercizio</li> </ul>
Stadio finale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• compromissione della funzione sisto-diastolica a riposo</li> <li>• aumenta il rischio di scompenso cardiaco congestizio</li> <li>• si associa ad alterazioni valvolari (soprattutto del cuore sinistro)</li> </ul>

## 4.2 Complicanze respiratorie

I pazienti con Acromegalia possono sviluppare diverse alterazioni dell'apparato respiratorio come conseguenza di modifiche anatomiche a carico del sistema scheletrico cranio-facciale, della cassa toracica, dei tessuti molli, della mucosa respiratoria e dei volumi polmonari. Le modificazioni anatomiche e fisiopatologiche a carico dell'apparato respiratorio possono determinare la Sindrome delle Apnee Notturme e l'insufficienza respiratoria. Quest'ultima è stimata a livello clinico e subclinico in circa l'80% dei pazienti ed è dovuta in gran parte alla minore efficienza dei muscoli respiratori [5].

*Tabella n.4. Alterazioni dell'apparato respiratorio indotte dall'Acromegalia*

Alterazioni anatomiche (ossa cranio-facciali, tessuti molli, mucosa e cartilagini delle alte vie respiratorie e della gabbia toracica)
Modificazione dei Volumi Polmonari
Modificazione dell'Attività dei Muscoli Respiratori

La sleep apnea, come si vedrà più avanti, è la forma più frequente tra i disturbi respiratori del sonno, ma è comunemente sottostimata nei pazienti con Acromegalia. Infatti, tutti gli acromegalici dovrebbero eseguire la polisonnografia alla diagnosi, sotto la supervisione degli pneumologi. Anche nei pazienti in cui si ottiene il controllo della malattia acromegalica la sleep apnea spesso non si risolve, per questa ragione il controllo post-trattamento rimane essenziale. Il trattamento della sleep apnea prevede varie soluzioni che vanno da modalità comportamentali fino alla prescrizione di una ventilazione meccanica a pressione positiva delle vie aeree. L'intervento maxillo-facciale può essere utile

quando, in questi pazienti, viene posta l'indicazione ad una correzione chirurgica delle alte vie respiratorie.

#### 4.3 Qualità della vita

La qualità della vita (QoL) è un parametro importante nello studio complessivo dell'Acromegalia. Sono disponibili vari questionari che misurano la QoL nei pazienti acromegalici e il loro utilizzo è raccomandato nella pratica clinica. Sia l'eccesso che il deficit di GH possono causare l'alterazione della QoL; il suo studio rimane indispensabile soprattutto nei pazienti acromegalici che, sottoposti a terapia radiante, rischiano di sviluppare un ipopituitarismo [22].

#### 4.4 Ossa e articolazioni

L'artropatia interessa circa il 75% degli acromegalici. Ogni articolazione può essere interessata (grandi e piccole articolazioni, colonna vertebrale) e le manifestazioni cliniche vanno dall'osteoartrite, all'artralgia fino alle fratture. L'iperostosi, associata all'imbibizione dei tessuti molli, può causare l'intrappolamento di strutture nervose; spesso, infatti, questi pazienti presentano la sindrome del tunnel carpale che richiede una correzione chirurgica. La disabilità provocata dall'interessamento articolare è sottostimata e contribuisce a limitare le attività quotidiane di questi pazienti. Fondamentale è una diagnosi precoce e un repentino trattamento poiché le modificazioni articolari ed ossee sono irreversibili. Le fratture vertebrali sono state dimostrate nei pazienti acromegalici indipendentemente dalla densità minerale ossea (BMD). Lo studio della massa ossea deve essere effettuato mediante mineralometria ossea computerizzata (MOC) ma la morfometria vertebrale della colonna dorso-lombare è fondamentale poiché consente di individuare le fratture vertebrali e serve per la diagnosi di deformità spinali. Negli acromegalici dovrebbero essere

studiate le cause secondarie di osteoporosi come il deficit di vitamina D, l'eventuale iperparatiroidismo associato e l'ipogonadismo [22].

#### 4.5 Ipogonadismo

L'ipogonadismo è presente in circa il 50% dei pazienti acromegalici, ma è spesso reversibile se non è irrimediabilmente compromessa la secrezione delle gonadotropine. La diagnosi biochimica nel sesso maschile può essere difficile per i bassi livelli di SHBG che rendono problematica l'interpretazione del valore del testosterone totale. In questi casi, la clinica e il dosaggio del testosterone libero sono importanti per la diagnosi. L'iperprolattinemia associata può peggiorare l'ipogonadismo. Anche per l'ipogonadismo il trattamento deve essere analogo al trattamento dell'ipogonadico non acromegalico. Nella donna l'ipogonadismo va valutato con attenzione e curato in modo appropriato, soprattutto se c'è desiderio di gravidanza [22].

#### 4.6 Complicanze metaboliche

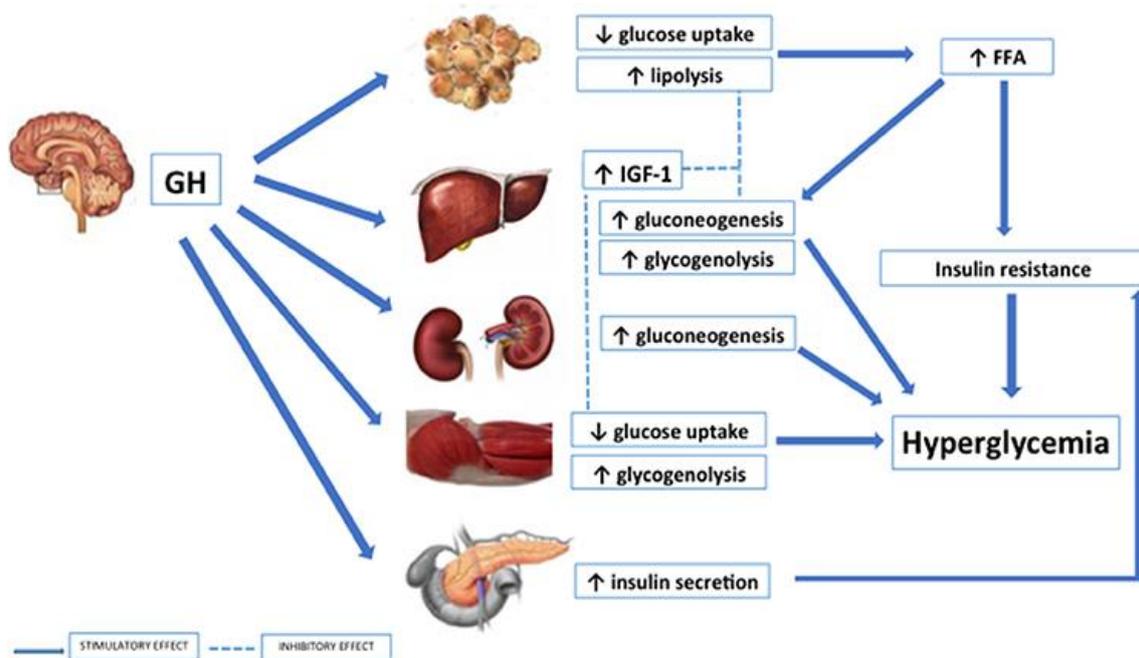
La prevalenza del diabete nei pazienti acromegalici varia dal 12 al 37% [28]. Il GH promuove l'insulino-resistenza principalmente attraverso la lipolisi e diminuzione dell'utilizzo del glucosio nel muscolo. Questo è ulteriormente aggravato dalla gluconeogenesi stimolata dal GH.

Gli studi hanno dimostrato che tutti i pazienti con acromegalia attiva mostrano una ridotta sensibilità all'insulina (misurata tramite HOMA-% S); tuttavia, alcuni pazienti possono compensare questa condizione con l'aumento della secrezione di insulina dalla cellula  $\beta$  mantenendo in questo modo una normale tolleranza al glucosio. Esperimenti in vivo, in pazienti euglicemici con acromegalia hanno

mostrato incrementata produzione epatica di glucosio e resistenza insulinica epatica e periferica.

È stato anche dimostrato che il GH blocca direttamente i mediatori del segnale di insulina. Del Rincon et al. [29] lo hanno dimostrato che il GH up-regola l'espressione della proteina p85alfa che è un modulatore chiave della segnalazione dell'insulina. Hanno anche dimostrato la soppressione dell'attività PI 3-chinasi associata a IRS-1 in risposta all'insulina [28] [Figura 8].

**Figura 8.** Effetto del GH sulla regolazione del metabolismo glicidico



Ferràù et al, *Front Endocrinol* 2018 [30]

È stato riportato in letteratura che i pazienti con una durata più lunga della malattia acromegalica hanno un rischio maggiore di sviluppare il diabete mellito [31]. Probabilmente la durata dell'esposizione a concentrazioni plasmatiche più elevate di GH e IGF-1 è correlata allo sviluppo dell'intolleranza al glucosio. Tra i meccanismi patogenetici, il più importante sembra essere proprio l'insulino-resistenza. In effetti, l'eccesso di GH sembra essere coinvolto nell'insorgenza

dell'iperglicemia che promuove l'insulino-resistenza attraverso la lipolisi, la stimolazione della gluconeogenesi e il blocco dei mediatori di segnalazione dell'insulina (p85 Alpha e IRS-1) [29,32].

Esistono diverse prove che la presenza di diabete nel paziente acromegalico è associata a una prognosi peggiore [33]. Pertanto, è importante ottenere un adeguato controllo glicemico per prevenire complicanze micro e macrovascolari. Il trattamento del diabete deve essere analogo al trattamento del paziente diabetico non acromegalico. Generalmente, l'abbassamento dei livelli di GH, indipendentemente dal tipo di terapia, migliora il controllo glicemico e aumenta l'insulino-sensibilità (il GH è un potente antagonista dell'insulina). Un'alterata glicemia a digiuno e un'intolleranza ai carboidrati sono state descritte nei pazienti in trattamento con SSA, (anche se l'iperglicemia è più frequentemente associata all'uso di Pasireotide rispetto agli altri analoghi): in questi casi una valida alternativa terapeutica è rappresentata dal Pegvisomant [26]. Il pasireotide, un analogo della somatostatina multirecettore, ha un'alta affinità per SSTR-5 seguito da SSTR-2, SSTR-3 e SSTR-1. La tendenza all'iperglicemia a seguito del trattamento con pasireotide è prevedibile considerando la sua affinità recettoriale. In effetti, le cellule  $\beta$  umane esprimono SSTR-2 e SSTR-5. Il pasireotide si lega preferibilmente a SSTR-5 portando alla soppressione della secrezione di insulina [28].

#### 4.7 Acromegalia e neoplasie

Le informazioni al riguardo sono abbastanza contrastanti.

Si sa sicuramente che GH e IGF1, agendo come fattori di crescita, aumentano il rischio della tumorigenesi e di incidenza dei tumori soprattutto maligni. Inoltre i recettori per questi due ormoni sono presenti su numerosi tipi cellulari appartenenti ai diversi tessuti di organi e apparati.

-Cancro colon-rettale: sicuramente in quei pz che hanno familiarità per polipi adenomatosi e neoplasie del colon-retto, è più frequente che si possa sviluppare una neoplasia a questo livello, per cui è molto giustificato fare uno screening endoscopico precoce nei pz acromegalici.

La colonscopia dovrebbe essere eseguita in tutti i pz con acromegalia dall'età di 40 anni, e dovrà essere ripetuta ogni 3 anni se c'è riscontro di adenoma, ogni 5 in assenza di alterazioni a livello del colon e normali livelli di IGF1.

Altri ricercatori ritengono che sia invece importante fare un primo screening e in assenza di familiarità e sintomatologia non occorre ripetere questa indagine negli anni.

-Carcinoma prostatico: l'incidenza non è risultata elevata, in ogni caso per tutte le neoplasie maligne e benigne è indicato *lo screening* e il *follow up* a lungo termine nei soggetti di sesso maschile.

-Carcinoma della tiroide: l'esistenza di un effetto autocrino locale IGF-1 mediato, è suggerito dal riscontro della produzione di IGF-I nelle cellule follicolari e papillari della tiroide e campioni chirurgici di tiroide in cui la sintesi di IGF-I è maggiore nel tumore che nel tessuto normale. Il gozzo multinodulare viene rilevato nel 65% dei pazienti acromegalici e le possibilità di sviluppo di noduli tiroidei aumentano con l'aumentare della durata della malattia [34]. Sebbene la proliferazione benigna della tiroide sia un fenomeno comune nell'acromegalia, l'insorgenza di tumori alla tiroide costituisce un evento relativamente raro in questa condizione. I tumori della tiroide sono prevalentemente a istogenesi papillare e occasionalmente aggressivi, come confermato dalla rara presenza di tumori multifocali e da bassi tassi di mortalità. Si suggerisce l'esecuzione di un'ecografia tiroidea se all'esame obiettivo risultano noduli palpabili.

-Carcinoma della mammella: è stato descritto un legame stretto tra i sistemi regolatori di crescita IGF1 e le cellule del carcinoma mammario positive al

recettore degli estrogeni negli studi in vivo a suggerire un ruolo di IGF-I e IGF-IR nello sviluppo del carcinoma mammario. Lo studio di Nabarro [4] riporta un aumento di quattro volte dell'incidenza di cancro della mammella in donne acromegaliche, dato non confermato da altri studi. In donne non acromegaliche, affette da tumore alla mammella, dati ottenuti da sperimentazioni in vitro, da modelli animali e trials epidemiologici hanno mostrato un coinvolgimento dell'asse GH/IGF1 nello sviluppo di questa neoplasia [35]. Si consiglia alle donne acromegaliche l'esecuzione dello screening mammografico con le stesse modalità della popolazione generale.

Alla luce di quanto descritto, risulta fondamentale il timing diagnostico per riportare precocemente il paziente acromegalico al *target* biochimico dei valori di IGF-1, per il controllo delle complicanze, per la prognosi e per assicurare l'adeguata qualità di vita del paziente affetto da questa patologia, sicuramente insidiosa ma che può essere mantenuta sotto controllo attraverso le terapie e un corretto monitoraggio.

## **5. Acromegalia e sviluppo di malattie autoimmuni**

### **L'effetto della stimolazione endocrina sul sistema immunitario**

È ormai accertato che il sistema endocrino ha un effetto sui meccanismi che regolano il sistema immunitario e questo è confermato dalla maggior prevalenza delle malattie a eziologia autoimmune nel sesso femminile rispetto al sesso maschile. Tra i vari fattori genetici, epigenetici ed evolutivisti che vengono presi in considerazione per spiegare questa differenza, un esempio è dato dal ruolo importante nella regolazione del sistema immunitario affidato agli estrogeni, i principali ormoni sessuali femminili, che, per quanto riguarda l'immunità, sono in grado di stimolare maggiormente la risposta immunitaria

diretta contro gli agenti infettivi virali. Si immagina come ai fini della sopravvivenza e dell'evoluzione una risposta immunitaria più aggressiva abbia costituito un efficace meccanismo di protezione dalle infezioni ad esempio conseguenti al parto.

Le donne infatti mostrano, rispetto agli uomini, una più efficace fagocitosi e presentazione antigenica, una più forte produzione di citochine infiammatorie, un numero più elevato di linfociti T CD4+ e livelli più alti di anticorpi circolanti. [36]

Dunque, se da un lato questa differenza, effetto della selezione naturale, conferisce una maggior efficacia della barriera immunitaria contro gli agenti infettivi, dall'altro è responsabile della rottura della tolleranza e sviluppo di patologie su base autoimmune nel sesso femminile.

Numerosi studi [37] individuano inoltre la presenza di un vero e proprio sistema neuroendocrino che influisce sul controllo delle funzioni immunitarie. Non è però ancora noto quale sia la reciprocità tra secrezione di ormoni, neuropeptidi e citochine e i segnali prodotti dalle cellule immunitarie. Gli studi citati suggeriscono che il sistema immunitario e neuroendocrino rappresentano un circuito totalmente integrato, in virtù della condivisione di un insieme comune molecole di segnalazione e di ormoni come: corticotropina, somatotropina, prolattina (PRL), tireotropina e infine la grelina. [38]

La grelina, ad esempio, è un ormone oressizzante che agisce proprio sui recettori GHS-R dell'ormone della crescita o GH espressi a livello ipotalamico, specialmente dalle cellule del nucleo arcuato e del nucleo ventro-mediale, agendo come secretagogo dell'GH stesso. [37]

La condivisione di questi segnali di comunicazione tra il sistema neuroendocrino e il sistema immunitario è testimoniata dalla presenza dei recettori specifici per

questi ormoni, individuati sulle cellule e sui tessuti degli organi che compongono il sistema immunitario come: il timo, la milza, i linfonodi e il midollo osseo.

I due sistemi, dunque, condividono i loro recettori e modulano l'uno la funzione dell'altro. [39]

### **L'ipersecrezione di GH e le patologie autoimmuni**

La patologia acromegalia è caratterizzata dalla presenza di complicanze multiorgano, che riguardano l'apparato cardio-vascolare, il sistema respiratorio, le articolazioni, il metabolismo e la sfera cognitivo-comportamentale

L'eccesso di GH e la conseguente espressione dell'effettore periferico IGF-1 dunque provocano effetti sistemici che si rendono manifesti dal punto di vista sia fenotipico, sia a livello d'organo. Tra le cellule e i tessuti bersaglio del GH e dell'IGF-1, in letteratura, non ci si è mai concentrati abbastanza su quelli che possono essere i meccanismi biologici di questo stimolo sul sistema immunitario. È opportuno analizzare singolarmente il GH e il suo effettore periferico. (IGF1)

Dalla letteratura emerge che gli animali ipofisectomizzati hanno deficit nelle funzioni immunologiche sia cellulo-mediate che umorali e che il GH può parzialmente migliorare queste carenze [38]. Questo dato però non è sostenuto da studi su bambini con deficit di crescita, legati al deficit di GH, la cui funzione immunitaria non risulta drammaticamente alterata.

In un certo numero di specie, compreso l'uomo, il GH stimola certamente la funzione timica e aumenta la secrezione di timulina, un ormone esclusivamente timico necessario per la differenziazione delle cellule T. [38] [39].

A tal proposito alcuni studi hanno indagato gli effetti sul sistema immunitario delle terapie farmacologiche utilizzate per il controllo dei livelli di GH e IGF-1 nei pazienti acromegalici, prendendo in considerazione farmaci come gli SSA

(analoghi della somatostatina) e il farmaco Pegvisomant: analogo ("pegilato") dell'ormone della crescita umano prodotto mediante ingegneria genetica. Il Pegvisomant, somministrato per via sottocutanea, lega i recettori per l'ormone della crescita (GHR), impedendo il legame dell'ormone endogeno e riducendo così la produzione di IGF-1.

Questa inibizione del legame tra ormone endogeno – recettore potrebbe potenzialmente favorire effetti biologici a livello sistemico da parte del GH endogeno “spiazzato” dal proprio recettore e dunque libero di circolare, effetti che però al giorno d’oggi non sono stati evidenziati. Dalla letteratura provengono pochi studi sul ruolo immunomodulante del farmaco Pegvisomant. Questi ultimi sono stati condotti su colture di cellule epiteliali timiche (TEC) e colture di timo fetale (FTOC). Da questi studi si evince che le proprietà timotropiche dell'asse GH/IGF1 implicano un'interazione tra GH e GHR esogeno espressi dalle cellule epiteliali del timo. L'inibizione degli effetti del GH da parte di Pegvisomant sostiene fortemente la specificità dell'effetto del GH sul timo mediante la downregulation dell'espressione del GHR, con una parallela diminuzione della trascrizione dell'IGF1 timico [39].

Gli effetti invece della stimolazione mediata dalla somatomedina (IGF-1) sono stati valutati con test sia *in vitro* che *in vivo* prendendo in considerazione popolazioni cellulari, come linfociti circolanti e monociti, ai quali la somatomedina fornisce un segnale anti-apoptotico mediante una riduzione della produzione delle caspasi intracellulari e aumento dell'espressione dell'oncogene Bcl-2 garantendo dunque la sopravvivenza di queste cellule. [40]

Queste evidenze potrebbero aprire le porte della ricerca su quelli che possono essere gli stimoli proliferativi e pro-survival di questi ormoni da sfruttare come terapia ad esempio nelle immunodeficienze primitive o acquisite (HIV e AIDS) che riguardano i linfociti T.

Per quanto riguarda le patologie autoimmuni e dunque la produzione di auto-anticorpi, gli studi di Naoki Hattori [41] hanno messo in luce gli aspetti molecolari con cui il GH agisce come stimolo alla proliferazione e allo sviluppo delle cellule B nei diversi stadi maturativi e alla produzione di immunoglobuline delle classi IgG,IgA,IgM. In questo caso l'aumento della produzione di immunoglobuline non è associato all'IGF1 ma direttamente al legame del GH con il proprio recettore GHR.

Queste evidenze hanno arricchito il rapporto tra linfociti B e GH, che era stato messo in evidenza per la prima volta da Weigent, Wu et al. [42], che non solo dimostrarono per la prima volta la presenza dei recettori per il GH sui linfociti B, ma anche che essi sono i principali elementi cellulari del sistema immunitario in cui è presente l'mRNA che codifica per il GH, presupponendone dunque la capacità di secernere piccole quantità dell'ormone stesso [41] [42].

Il GH dunque sembra avere diverse azioni biologiche nel sistema immunitario, tra cui: potenziamento della timopoiesi e dello sviluppo delle cellule T, modulazione della produzione di citochine, potenziamento dello sviluppo delle cellule B e della produzione di anticorpi, oltre ad avere un ruolo spiccato nella risposta infiammatoria su cellule come neutrofili e monociti per la secrezione dell'anione superossido, potenziamento dell'adesione dei neutrofili e della migrazione dei monociti, e infine azione anti-apoptotica. [41].

L'interrogativo che nasce dal rapporto tra stimolazione ormonale sostenuta dal GH e responsività degli elementi del sistema immunitario è quello del ruolo che questo ormone e il fattore di crescita IGF-1 possano avere, quando presenti in concentrazioni elevate come nel caso del paziente acromegalico. Questo

fenomeno favorisce la rottura della tolleranza immunitaria o al contrario assume un ruolo protettivo verso lo sviluppo di patologie a eziologia autoimmune?

In letteratura esistono alcuni studi case-report di pazienti con acromegalia e concomitante patologia autoimmune, tra cui tiroidite autoimmune, miastenia *gravis*, sindrome di Sjögren (SS), ma la casistica è estremamente rara e l'insorgenza di queste patologie non sembra dipendere dalla presenza dell'adenoma GH secernente.

## **6. Aspetti infiammatori e profilo microvascolare nel paziente con Acromegalia**

### 6.1 Lo stato infiammatorio e i mediatori dell'infiammazione

L'infiammazione è il meccanismo di difesa messo in atto dal nostro organismo che ha l'obiettivo di localizzare ed eliminare un eventuale agente nocivo promuovendo la guarigione.

La risposta infiammatoria consiste in modifiche del flusso sanguigno, incremento della permeabilità dei vasi, migrazione degli elementi dell'immunità innata e adattativa dalla circolazione al sito di danno tissutale, espressione di chemochine e citochine che promuovono lo stato infiammatorio e di altrettanti mediatori che, invece, modulano questa risposta guidandola verso la risoluzione.

I protagonisti principali della difesa e del mantenimento dell'omeostasi all'interno del nostro organismo sono gli effettori dell'immunità innata e adattativa.

L'immunità innata fornisce una rapida difesa di prima linea, indipendente dall'antigene e aspecifica contro agenti patogeni esogeni o endogeni.

In questo processo, i recettori di riconoscimento dei *pattern* (PRR), presenti sulle cellule del sistema immunitario innato, rilevano i *pattern* molecolari associati ai patogeni (PAMP) e/o associati al danno tissutale (DAMP), innescando le risposte

dell'ospite che includono: la produzione di citochine e chemochine, l'attivazione del complemento, la produzione di interleuchine e interferoni attraverso l'attivazione di fattori trascrizionali, l'induzione di processi immunitari come fagocitosi, autofagia e apoptosi e l'inizio di una risposta immunitaria adattativa di lunga durata altamente specifica. Le cellule presentanti l'antigene (APC), come le cellule dendritiche (DC), assorbono gli antigeni, li elaborano in brevi peptidi e li presentano nel contesto del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) che porta all'attivazione delle cellule *T helper* (CD4+) e T citotossiche (CD8+). Le cellule *T helper* di tipo 1 (Th1) producono interferon-gamma, interleuchina (IL)-2 e fattore di necrosi tumorale (TNF)- $\beta$ , che attivano i macrofagi. Le cellule *T helper* di tipo 2 (Th2) generano IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, che facilitano la produzione di anticorpi. A seconda del microambiente, invece, i macrofagi possono evolvere in sottotipi M1 pro-infiammatori o M2 antinfiammatori. I macrofagi M1 rilasciano citochine pro-infiammatorie che inducono l'attivazione delle cellule T CD4+. I macrofagi M2 generano, d'altra parte, citochine antinfiammatorie come IL-10 e promuovono l'attivazione delle cellule T regolatorie (Treg) [43]. I segnali provenienti dalle APC attivano la differenziazione dei linfociti T effettori e polarizzano la risposta immunitaria verso il differenziamento in linfociti Th-1 e Th-17. Gli effettori Th-1 e Th-17 partecipano all'infiammazione, parte invece dei CD4+ sono le cellule T regolatorie (Tregs), che sopprimono l'attivazione della risposta immunitaria attraverso la produzione di citochine immunosoppressive, come TGF- $\beta$  e IL-10.

Le citochine prodotte svolgono il compito di reclutare i granulociti neutrofili polimorfonucleati (PMN) e i monociti nei siti di lesione e indurre l'espressione di molecole di adesione tra cui: ligandi delle integrine, molecole di adesione intercellulare (ICAM) e molecole di adesione vascolari (VCAM) sulle cellule endoteliali. Oltre alla produzione delle citochine pro-infiammatorie, che vengono

liberate nel torrente circolatorio, le cellule del sistema immunitario innato producono ROS, come il superossido e il perossido di idrogeno. Un processo infiammatorio a lungo termine aumenta la produzione di ROS, causando stress ossidativo che porta alla disfunzione endoteliale. È noto che la funzione endoteliale, oltre che puramente strutturale, è quella di regolare il tono dei vasi sanguigni, pertanto, quando l'infiammazione perdura, la biodisponibilità di ossido nitrico (NO) diminuisce, viene impedita la sua principale funzione di vasodilatatore, per cui l'integrità strutturale e la capacità di autoregolazione endoteliale viene meno. I linfociti T effettori e i linfociti regolatori, parte del sistema immunitario adattativo svolgono, dunque, un ruolo nel danno endoteliale, nella vasocostrizione e nell'ipertensione, responsabili, pertanto, di un danno sia micro che macrovascolare[44].

### 6.2 Le caratteristiche infiammatorie nel paziente acromegalico

La patologia acromegalica è sicuramente gravata da complicanze che, oltre che metaboliche, insorgono a seguito del prolungato stimolo trofico mediato dai livelli elevati di *growth hormone* (GH) e di IGF-1 circolante, come l'ipertrofia ventricolare e l'insufficienza valvolare (cardiopatìa acromegalica), o l'ipertrofia e dei tessuti molli e osteocartilaginea che giustificano rispettivamente l'insorgenza della sindrome del tunnel carpale e l'osteoartrite. Accanto a questo aspetto patogenetico di tipo meccanico/strutturale bisogna considerare anche come questo squilibrio endocrino si renda responsabile di uno stato infiammatorio persistente, cronico, che può decorrere anche in maniera non clinicamente manifesta, la cui causa risiede proprio nell'*over* espressione dei due ormoni.

Dal punto di vista cellulare, Touskova et al. [45] hanno suggerito un ruolo di induzione da parte dell'IGF1 nello sviluppo di un'infiammazione subclinica,

attraverso l'attivazione dei monociti circolanti periferici. Uno studio recente [46], inoltre, ha trovato correlazioni positive tra i livelli di IGF1 e due *marker* di infiammazione: il rapporto neutrofili/linfociti (NLR) e rapporto piastrine/linfociti (PLR). NLR e PLR sono nuovi marcatori ematologici dell'infiammazione che possono essere facilmente ottenuti mediante un esame emocromocitometrico completo. Entrambi sono stati indicati come fattori prognostici nelle malattie cardiovascolari e fattori di rischio indipendenti di diverse patologie, come la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) e alcuni tumori solidi tra cui neoplasie dell'apparato gastrointestinale [46].

In ogni caso sono pochi gli studi che hanno valutato gli effetti diretti di GH e/o IGF1 sulla produzione di citochine [47,48]. Il dato che emerge è che nell'acromegalia è presente uno stato pro-infiammatorio, con concentrazioni più elevate di TNF-alfa e IL-8 rispetto ai soggetti sani [49]. Uno studio più recente [50] ha dimostrato, infatti, che l'IGF1, ma non il GH, ha effetti pro-infiammatori, probabilmente attraverso l'attivazione della via MAPK, inducendo la produzione di IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN $\gamma$ , nonché della citochina antinfiammatoria IL-10. Ad ogni modo i meccanismi esatti attraverso i quali GH e/o IGF1 potrebbero influenzare le cellule infiammatorie non sono del tutto chiari. L'eccesso di IGF1 è responsabile dell'infiammazione microvascolare che porta al danno endoteliale dovuto alla sovraespressione delle molecole di adesione cellulare.

Bisogna, altresì, considerare non solo la capacità dell'IGF-1 di promuovere l'infiammazione ma anche quella di stimolare la sintesi di citochine antinfiammatorie, come la già citata Interleuchina-10 (IL-10). Riconosciuta per la sua capacità di inibire l'attivazione di cellule T, monociti e macrofagi, l'IL-10 è una citochina multifunzionale con diversi effetti sulla maggior parte delle cellule emopoietiche. Oltre a regolare la crescita e la differenziazione di cellule B, NK, cellule T citotossiche e *T-helper*, mastociti, granulociti, cellule dendritiche,

cheratinociti e cellule endoteliali, l'IL-10 svolge un ruolo chiave nella differenziazione di un tipo di cellula T fondamentale: la cellula T regolatoria (Treg), elemento principale nel controllo delle risposte immunitarie e della tolleranza al *self*. La principale funzione dell'IL-10 sembra essere, dunque, quella di limitare e successivamente porre fine alla risposta infiammatoria. [48][53]

A livelli fisiologicamente nei limiti della norma, inoltre, l'IGF1 influenza le cellule endoteliali (EC) e le cellule muscolari lisce vascolari (VSMC), migliorando l'espressione di eNOS, che aumenta la produzione di NO e inibisce la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), riducendo così il tono vascolare e limitando lo stress ossidativo. L'eccesso di IGF1, invece, diminuisce la produzione di NO attraverso l'induzione dell'insulino-resistenza, con conseguente ipertrofia della parete vasale e disfunzione microvascolare, correlata ai livelli stessi di IGF-1 [51]. Wolters et al. [52] hanno messo in correlazione, in pazienti con acromegalia, questo fenotipo pro-infiammatorio con il controllo della malattia mediante terapia farmacologica o terapia chirurgica.

I risultati di tale studio, hanno mostrato un quadro infiammatorio più pronunciato nei soggetti con malattia non controllata, mentre il trattamento migliora solo parzialmente questo *bias* pro-infiammatorio, che permane in maniera cronica nei pazienti [52]. Poiché sia l'infiammazione che la disfunzione endoteliale promuovono l'aterogenesi, questi dati sottolineano l'importanza di un trattamento tempestivo associato a un costante monitoraggio, al fine di prevenire le complicanze cardiovascolari.

### 6.3 Il segnale IL33/ST2

L'interleuchina 33 (IL-33) è una delle citochine appartenenti alla superfamiglia dell'IL-1, altamente espresse dalle cellule endoteliali. L'IL-33 ha una

localizzazione intracellulare che, (eccezionalmente rispetto ad altre citochine), è nucleare, e una localizzazione extracellulare dove agisce come citochina. Sebbene IL-33 si trovi nel nucleo, non sembra essere in grado di regolare l'espressione genica, tuttavia l'azione intracellulare sembrerebbe influenzare la sua attività citochinica. L' IL-33 viene rilasciata dalle cellule e possiede una varietà di funzioni immunologiche e infiammatorie.

Nel corso dell'infiammazione acuta agisce come "allarmina" e viene rilasciata nel tessuto danneggiato per modulare le risposte pro-infiammatorie attraverso l'attivazione della via delle MAPK e di NF $\kappa$ B. Solo recentemente l' IL-33 è stato identificato come ligando per il recettore orfano ST2 (IL-1RL1).

La molecola ST2 fa parte della famiglia dei recettori dell'IL-1 ed esiste in due forme: una forma transmembrana (ST2L) e una forma solubile (sST2) prodotta per *splicing* alternativo dall' m-RNA del gene ST2. Questa forma solubile di ST2 funge da *decoy* ("trappola") neutralizzando così l'IL-33 circolante [54]. ST2L risulta espresso sulla superficie di molte cellule ematopoietiche: granulociti, cellule NK, mastociti, monociti, cellule dendritiche e cellule Th2 ma non dai linfociti Th1 [55].

ST2 dimerizza con la proteina accessoria IL-1R (IL-1RAcP) andando a costituire il recettore dell'IL-33 (IL-33R1). È proprio il legame con questo eterodimero a dare inizio ai segnali intracellulari mediati dall' IL-33.

Questo segnale provoca l'inizio di una cascata di segnalazione intracellulare che culmina con la produzione di mediatori dell'infiammazione come IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-6, TNF, IL-5 e IL-13.

Bisogna considerare come siano le stesse citochine a regolare la produzione dell' IL-33, venendosi a creare una via di segnalazione in grado di autosostenersi. Infatti, l'interazione tra le cellule dell'immunità innata e le molecole PAMP

(*patterns* molecolari associati ai patogeni) o DAMP (*patterns* molecolari associati al danno), insieme alle citochine TNF- $\alpha$  e IL-1, aumentano la produzione di IL-33 da parte dei macrofagi. Al contrario, invece, alcune citochine pro-infiammatorie come IL-6 sono potenti induttori del ST2 solubile (sST2) meccanismo che, in questo caso, sopprime gli effetti dell'IL-33 circolante. In assenza di stimoli pro-infiammatori, IL-33 resta confinato all'interno delle cellule. Sebbene IL-33 sia un "allarmina" coinvolta nei processi infiammatori, vi sono prove che IL-33 svolga un ruolo nei processi di cicatrizzazione e fibrosi. Il segnale IL-33/ST2 attiva i macrofagi M2 nel favorire la riparazione dell'epidermide danneggiata e nell'indurre l'angiogenesi [56].

Non è chiaro, al momento, come IL-33 venga rilasciato nell'ambiente extracellulare, quel che è certo è che l'IL-33 ha un ruolo importante nell'immunità innata e adattativa e nel promuovere uno stato infiammatorio. Come dimostrato da diversi studi [57,58], il suo recettore ST2L è espresso sulla maggior parte delle cellule immunitarie, dimostrando un ruolo indiretto nella fisiopatologia di diverse malattie infiammatorie e autoimmuni tra cui asma, allergie, artriti, sepsi, malattie infiammatorie intestinali (IBD) e ulcere digitali da danno endoteliale nella sclerosi sistemica.

È stata rilevata una maggiore espressione di IL-33 nelle placche aterosclerotiche [57], sottolineando l'importanza di IL33 nella biologia e nel rimodellamento vascolare, dove l'interazione tra IL-33 e il recettore ST2 è in grado di attenuare la risposta immunitaria caratteristica della fisiopatologia dell'aterosclerosi. Al contrario, la ST2 solubile, che ricordiamo agisce sequestrando l'IL-33 circolante, è stata valutata in numerosi studi clinici sulle malattie cardiovascolari ed è riconosciuta come un biomarcatore prognostico di mortalità approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) nei pazienti con insufficienza cardiaca cronica [59,60].

#### 6.4 La valutazione del profilo microvascolare

Il microcircolo è costituito da vasi di dimensioni inferiori a 200 micron interposti tra la componente arteriosa e venosa dei singoli distretti vascolari [61]. Il microcircolo è composto da arteriole, metarteriole, capillari e venule e oltre a questi vasi, il microcircolo comprende anche i capillari linfatici e i dotti di drenaggio linfatico [62]. La principale funzione del microcircolo è il trasporto di ossigeno e sostanze nutritive ai tessuti e la rimozione di anidride carbonica e sostanze di rifiuto prodotte dal metabolismo tissutale. Un'altra funzione è regolare il flusso sanguigno e la perfusione tissutale, influenzando quindi la pressione sanguigna. La maggior parte dei vasi del microcircolo sono rivestiti da cellule endoteliali appiattite, sostenute da una membrana basale e circondate da cellule contrattili chiamate periciti.

L' endotelio non è da intendere semplicemente sotto l'aspetto strutturale come lo strato più interno nell' architettura della parete vascolare, ma è una componente attiva e fondamentale in tutto l'apparato cardiovascolare.

Le cellule endoteliali, oltre a permettere la diffusione dell' ossigeno e delle sostanze nutritive, reagiscono alle variazioni del flusso, all' ipossia, agli stimoli ormonali, agli insulti infettivi, a stimoli infiammatori e alle lesioni tissutali, passando da uno stato basale ad uno stato "attivato" risultando come principali protagoniste di vari meccanismi fisiologici e fisiopatologici, tra cui: la vasodilatazione e la vasocostrizione che regolano la pressione sanguigna, l'attivazione della cascata della coagulazione, l' espressione di molecole di adesione e l' espressione alterata di citochine e chemochine che rappresentano , ad esempio, il *primum movens* nell' aterosclerosi in seguito al danno endoteliale. A tal proposito bisogna ricordare come la scoperta della capacità delle cellule

endoteliali di regolare il tono vasale mediante la produzione di ossido nitrico (NO) sia valse il Premio Nobel per la medicina del 1998 agli studiosi Louis J. Ignarro, Robert Furchgott e Ferid Murad con il seguente merito: aver scoperto le implicazioni della molecola di monossido di azoto nel sistema cardiovascolare [63]. Questa scoperta ha rivoluzionato e profondamente segnato un punto di svolta della ricerca scientifica nello sviluppo delle attuali terapie per il controllo dell'ipertensione e delle patologie cardiovascolari. Appare chiaro comprendere come l'omeostasi delle cellule endoteliali e l'integrità del microcircolo risultino fondamentali nel garantire la corretta perfusione dei tessuti, e quanto la loro alterazione sia alla base di diverse patologie che colpiscono organi e apparati, provocando la compromissione della loro funzionalità.

Uno stato infiammatorio subclinico e persistente può rappresentare uno dei *triggers* di questi fenomeni patogenetici, poiché l'endotelio è soggetto all'azione delle citochine pro-infiammatorie e parimenti influenzato dai mediatori della risoluzione dell'infiammazione.

La valutazione del microcircolo si avvale di tecniche diagnostiche capaci di ricavare informazioni morfologiche e funzionali e in grado di fornire un quadro oggettivo dello stato delle strutture microvascolari.

Il laser speckle contrast analysis (LASCA) è una tecnica di imaging veloce, ad alta risoluzione e affidabilità, in grado di quantificare il flusso sanguigno su aree specifiche (ROI) e basata sul principio che nel momento in cui il laser illumina un tessuto va a creare un pattern definibile "a macchie" con differenze colorimetriche tra le regioni perfuse [65,66,67]. I cambiamenti di questo pattern vengono analizzati da un software, con le aree in condizione statica che mostrano un pattern di macchie stazionario, e al contrario gli oggetti in movimento (in questo caso i globuli rossi) modificano il pattern delle macchie facendolo appare

sfocato. Il livello di contrasto viene analizzato e interpretato come PBP (*Peripheral Blood Perfusion*).

La valutazione del profilo microvascolare fornisce dunque informazioni riguardo ai distretti vascolari più distali dell'apparato vascolare, regioni anatomiche tanto piccole in dimensioni quanto cruciali per gli scambi energetici e la sopravvivenza di tessuti, organi e apparati. Come dimostrato dallo studio di Rosato et al. [68], in patologie come la sclerosi sistemica, la presenza di anomalie del profilo microvascolare è correlata alla presenza di alterazioni dei vasi sanguigni di maggiori dimensioni, nello specifico, al peggiorare del quadro microangiopatico dei pazienti con sclerosi sistemica si assiste a un concomitante e progressivo danno strutturale macrovascolare.

Dalla precedente analisi si evince che L'eccesso di IGF-I è coinvolto anche nell'infiammazione microvascolare che porta al danno endoteliale, sia direttamente che indirettamente a causa dello sviluppo di comorbidità che interferiscono con la microcircolazione come ipertensione, diabete e sindrome delle apnee ostruttive del sonno (OSAS).

## **7. Acromegalia e White Matter Hyperintensities (WMHs)**

L'impatto a lungo termine sul parenchima cerebrale di livelli elevati e persistenti di GH/IGF-1 sierico nei pazienti acromegalici è rimasto in gran parte sconosciuto.

Per quanto riguarda la sostanza grigia, Taoyang Yuan et al. (2021) [69] hanno dimostrato in vivo aumenti diffusi dello spessore corticale nei pazienti con acromegalia. L'aumento diffuso dello spessore corticale può essere correlato al ruolo del GH/IGF-1 nel contribuire alla proliferazione delle cellule nel sistema nervoso centrale.

Sievers et al (2009) [70] hanno dimostrato che l'eccesso di GH e IGF-1 è associato ad un'espansione volumetrica del compartimento GM e WM del cervello, accompagnata da diminuzioni compensative del volume del liquido cerebrospinale e da aumenti del volume intracranico totale, cambiamenti che sembrano verificarsi durante i primi 10 anni di eccesso ormonale. Contestualmente, i pazienti mostrano focali alterazioni della sostanza bianca cerebrale, possibili marker di patologia neurovascolare.

Gli autori mettevano in relazione al protratto eccesso ormonale le alterazioni osservate a carico della sostanza grigia e della sostanza bianca cerebrale, senza indagare in dettaglio il possibile effetto dei fattori cardiovascolari comunemente associati all' acromegalia.

Tuttavia, se da un lato è verosimile che IGF-1/GH aumentino la suscettibilità al danno ischemico cerebrale, interferendo ad esempio con le capacità di riparazione, dall'altro non possiamo escludere l'influenza di comorbidità frequentemente presenti in questi pazienti, come l'ipertensione arteriosa ed il diabete mellito. L'accumulo di danno strutturale e la microangiopatia possono essere responsabili di sequele a lungo termine non trascurabili, anche dal punto di vista cognitivo [71], rendendo obbligatorio un attento monitoraggio e trattamento delle comorbidità cardiovascolari e metaboliche.

## **8. Cefalea nel paziente con Acromegalia**

La cefalea è un sintomo frequentemente riportato dai pazienti affetti da patologie ipofisarie, con una prevalenza che varia dal 33 al 72% [72]. Può costituire la manifestazione iniziale ed avere gravità variabile, talvolta con un ruolo essenziale nel raggiungimento della diagnosi corretta [73]. Nessun adenoma

ipofisario è stato associato ad una specifica sindrome cefalalgica [74]. La sua fisiopatologia è piuttosto complessa e solo parzialmente imputabile a fattori meccanici, quali le dimensioni del tumore e l'invasione del seno cavernoso [75]; aspetti neuroendocrini e disturbi dell'asse ipotalamo-ipofisario sono probabilmente coinvolti nel suo sviluppo. Sebbene sia solitamente considerata di natura secondaria, può persistere nonostante una terapia efficace della malattia sottostante. Il raggiungimento del controllo biochimico non porta necessariamente ad un miglioramento della cefalea: è ormai noto che solo una percentuale dei pazienti sottoposti a neurochirurgia riscontra una significativa riduzione della stessa [76] e anche l'utilizzo di nuove strategie farmacologiche, come l'uso di analoghi della somatostatina a lunga durata d'azione, sembra dare un contributo limitato [77]. Al contrario, nei pazienti con adenomi ipofisari è frequentemente descritta la presenza di emicrania con una prevalenza ben più alta rispetto alla popolazione generale [78]. Questa cefalea primaria è scarsamente influenzata dal decorso e dal trattamento della patologia ipofisaria e può potenzialmente diventare invalidante, con un impatto negativo sulla qualità della vita dei pazienti.

#### *8.1 Disfunzione endoteliale e emicrania [79].*

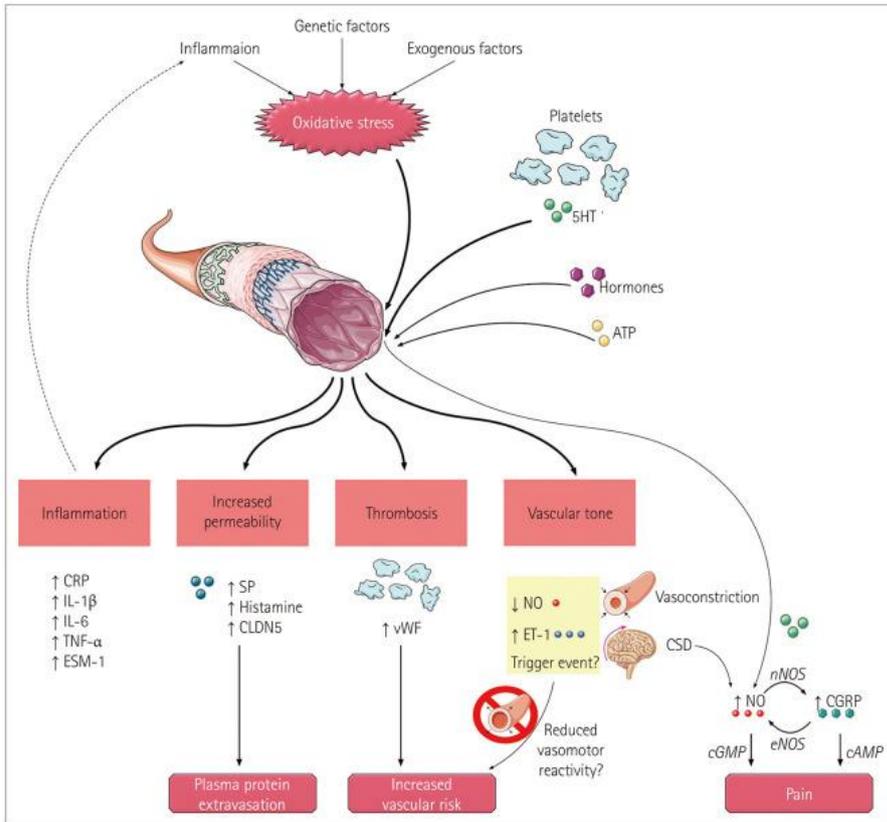
La complessa patofisiologia dell'emicrania è ancora oggi solo parzialmente conosciuta. La presenza di un coinvolgimento vascolare è noto da tempo: lo sviluppo del dolore è infatti secondario non solo al massivo rilascio di mediatori infiammatori ma anche alla diffusa vasodilatazione dei vasi meningei, mentre alterazioni del calibro vasale sono notoriamente associate al fenomeno dell'aura. Il distretto vascolare è proprio il sito di azione di alcuni nuovi farmaci di profilassi dell'emicrania, che hanno come bersaglio la via del CGRP. Inoltre, storicamente, l'emicrania si associa alla presenza di alterazioni a carico della sostanza bianca cerebrale: piccole alterazioni parenchimali, prive di effetto

massa, che sembrano apparire piuttosto precocemente in corso di malattia e che rimangono sostanzialmente stabili negli anni. Nonostante sia stata estesamente proposta la loro genesi vascolare, numerosi studi hanno fallito nel trovare un'interpretazione univoca della loro natura.

Molteplici fattori sono stati chiamati in causa per giustificare la genesi dell'attacco emicranico e la presenza, in questa popolazione, di WMHs: tra questi, la disfunzione endoteliale potrebbe avere un ruolo cruciale in entrambi questi aspetti.

La presenza di alterazioni endoteliali sembra verosimile nei pazienti emicranici, sebbene non sia chiaro se rappresentino uno dei fattori causali degli attacchi di emicrania o, al contrario, siano conseguenza della malattia. Secondo recenti studi, fattori endogeni ed esogeni potrebbe agire di concerto causando un aumentato stress ossidativo, possibile trigger di disfunzione endoteliale. Conseguenti alterazioni del tono vascolare e della coagulabilità, potrebbero influire nella cascata di eventi generanti l'attacco e favorire lo sviluppo di lesioni parenchimali [Figura 9].

Figura 9. Meccanismo proposto di correlazione Migraine-Endotelial dysfunction



## -Disfunzione endoteliale e vasocostrizione

Il gran numero di sostanze diverse rilasciate dall'endotelio comprendono l'ossido nitrico (NO), l'endotelina-1 (ET-1), il fattore di von Willebrand (vWF), l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1, l'angiotensina II, la prostaciclina, il fattore di attivazione piastrinica, l'omocisteina e adrenomedullina (AM). Queste sostanze influenzano la contrazione delle cellule muscolari lisce (SMC), sia la pro- che l'anticoagulazione, la lisi o formazione di trombi e lo stress ossidativo. L'omeostasi dell'endotelio è mantenuta dall'azione equilibrata di sostanze con funzioni opposte. Questo equilibrio può andare perduto quando l'endotelio viene danneggiato da meccanismi legati a fattori di rischio vascolare o da fattori genetici o esogeni, determinando la cosiddetta disfunzione endoteliale. La disfunzione endoteliale può infine portare a vasocostrizione, aumento della permeabilità, infiammazione e un profilo protrombotico.

La vasocostrizione è un risultato tipico della disfunzione endoteliale. Tra tutti i prodotti dell'endotelio, l'NO è il principale regolatore del tono vascolare: è un potente vasodilatatore, responsabile della vasodilatazione endotelio-dipendente. Lo stress ossidativo, uno dei meccanismi conosciuti di disfunzione endoteliale, riduce la biodisponibilità di NO poiché quest'ultimo reagisce prontamente con i ROS quando il sistema antiossidante è esaurito. Poiché ciò provoca uno squilibrio del tono vascolare, i livelli di sostanze come ET-1 e angiotensina II diventano eccessivi tanto da portare alla vasocostrizione.

L'inibizione del NOS e la ridotta disponibilità di NO sono controbilanciate da aumentati livelli di L-arginina e la sensibilità al NO del VSMC. Sebbene una diminuzione della disponibilità di NO possa essere un fattore scatenante, il ripristino dei livelli di NO (sostenuto in parte dalla CSD) è cruciale per la vasodilatazione e l'induzione del dolore.

#### **-Disfunzione endoteliale e infiammazione [80]**

Livelli più elevati di citochine confermano la presenza di uno stato infiammatorio durante un attacco di emicrania; un piccolo studio ha rilevato livelli più elevati di interleuchina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  ed endocano (chiamato anche ESM-1), l'ultimo dei quali è prodotto dall'endotelio.

#### **-Disfunzione endoteliale e ipercoagulabilità [81]**

Un recente studio pilota su pazienti donne con emicrania ha riscontrato uno stato di ipercoagulabilità che ha confermato una diminuzione del tempo di reazione del coagulo piastrinico e del tempo necessario per la massima generazione di trombi e una polimerizzazione aberrante della fibrina dovuta a una conformazione  $\beta$ -amiloide della fibrina, rispetto ai controlli. Ciò significa che i pazienti affetti da MA possono produrre coaguli più forti e più grandi più rapidamente, in particolare durante gli attacchi di cefalea. Una causa di questo

stato di ipercoagulabilità può essere identificata nello stress ossidativo, dal momento che lo studio pilota ha anche scoperto che gli eritrociti negli stesse pazienti presentavano variazioni significative in termini di dimensione, forma e distribuzione, e lo stress ossidativo è uno dei principali determinanti delle alterazioni delle membrane degli eritrociti.

## **9. Emicrania e WMHs**

Recenti studi di neuroimaging hanno documentato la presenza di ipertintensità della sostanza bianca nei pazienti emicranici [82-83].

Queste alterazioni focali subcliniche sono spesso osservate precocemente nel corso di malattia, in individui giovani privi di altri fattori di rischio cardiovascolare, ed interessano la sostanza bianca periventricolare e profonda. Alcuni studi hanno mostrato una maggior presenza in pazienti affetti da emicrania con aura e con una maggiore frequenza di attacchi. L'elevata prevalenza dell'emicrania, terza malattia al mondo, giustifica il notevole interesse rivolto verso la loro patofisiologia: rispetto alla popolazione anziana, le WMHs degli emicranici hanno una differente distribuzione, suggerendo diverso meccanismo alla base. L'encefalo emicranico è costantemente sottoposto ad un notevole dispendio energetico, che raggiunge livelli notevoli durante l'attacco e le manifestazioni associate all'aura emicranica. L'aumentata richiesta di ossigeno e nutrienti, associata allo stato infiammatorio proprio della patologia, potrebbe rendere questi pazienti più suscettibili allo sviluppo del danno, secondario dunque ad una transitoria e relativa ipossia. Sebbene apparentemente prive di impatto sulla funzione cognitiva, considerando la giovane età degli affetti e l'elevata prevalenza di malattia, l'associazione tra emicrania e WMHs rappresenta un problema non trascurabile di salute generale [83].

## PARTE SPERIMENTALE

### 10. Obiettivi dello studio

Il paziente con acromegalia presenta uno stato infiammatorio cronico la cui patogenesi non è ancora completamente nota e l'indagine di nuovi fattori infiammatori, in particolare IL33, potrebbe avere un importante impatto sul target terapeutico.

Inoltre, la possibilità di avere a disposizione metodiche di facile esecuzione, non invasive, capaci di valutare l'integrità del microcircolo a livello dei capillari periungueali delle dita della mano (Laser Dopplergrafia), permette di valutare indirettamente lo stato di diversi organi e apparati, altrimenti studiati attraverso metodiche invasive, le cui alterazioni possono rendersi responsabili di importanti quadri patologici per i pazienti.

Alla luce di queste osservazioni ci si è interrogati sulla possibilità di indagare la presenza di alterazioni del parenchima cerebrale nei pazienti con acromegalia under 65. La caratterizzazione delle eventuali alterazioni riscontrate potrebbe far comprendere meglio i possibili meccanismi fisiopatologici coinvolti nella loro genesi, permettendo una migliore gestione ed un approccio terapeutico più consapevole e precoce in questi pazienti.

Pertanto, gli obiettivi di questo studio effettuato su una coorte di pazienti acromegalici (AP) sono stati:

- Dosare i livelli sierici di IL33 per valutarne il ruolo nel danno cronico infiammatorio;
- Valutare la presenza di danno microvascolare mediante Laser Speckle contrast Analysis (LASCA) e correlarlo con il danno d'organo del paziente

con acromegalia, considerando l'eventuale l'impatto delle terapie malattia-specifiche;

- Valutare la presenza di alterazioni del parenchima cerebrale nei pazienti con acromegalia under 65 e indagare l'eventuale coinvolgimento nella fisiopatologia della loro genesi di: emicrania, stato infiammatorio cronico e comorbidità.

## 11. Pazienti e metodi

Per questo studio pilota sono stati arruolati 40 pazienti acromegalici (AP) (15 maschi, 25 femmine) che afferiscono regolarmente al nostro centro per la gestione delle malattie ipofisarie (Dipartimento di Medicina Sperimentale-Endocrinologia-Università "Sapienza" di Roma) e 40 controlli sani (HC) comparati per sesso, età e BMI. I dati clinici e anamnestici sono riportati nella **Tabella 5**.

**Tabella 5.** *Caratteristiche cliniche e anamnestiche dei pazienti acromegalici (AS).*

<b>Età, anni, mediana e IQR</b>	55 (44-65)
<b>Femmine, n (%)</b>	25 (62,5)
<b>Età alla diagnosi, anni, mediana e IQR</b>	39 (33-44,5)
<b>Durata di malattia, anni, mediana e IQR</b>	15 (12-25,5)
<b>Latenza diagnostica, anni, mediana e IQR</b>	2 (1-5)

<b>IGF-1, ng/ml, mediana e IQR</b>	216 (167 -321)
<b>Target, n (%)</b>	25 (62,5)
<b>Hypertension, n (%)</b>	27(67,5)
<b>OSAS, n (%)</b>	16 (40)

*IQR, intervallo interquartile; GH, growth hormone; IGF1, insulin-like growth factor 1.*

L'età mediana dei pazienti era di 55 anni (IQR 44-65 anni) e la durata della malattia 15anni (IQR 12-25,5 anni). La maggior parte dei pazienti (37/40, 92,5%) ha ricevuto trattamento per l'acromegalia: neurochirurgia, radioterapia, terapia farmacologica, da soli o in associazione. Tre pazienti erano di nuova diagnosi e la terapia era naïve; 15/40 in trattamento con SSA, in 11/15 casi preceduto da NCH; 9 in trattamento con Pegvisomant, in 6/9 casi preceduto da NCH; 13/40 pazienti erano stati trattati radicalmente con sola terapia chirurgica. In questo studio sono stati arruolati un totale di 40 CS abbinati per sesso (F= 27, 67,5%) , età (mediana 54,4 anni e IQR 44-65) e BMI 24,1 kg/m<sup>2</sup>.

### **Criteri di inclusione e di esclusione**

I criteri di inclusione per l'AP erano: diagnosi confermata di acromegalia, età  $\geq$  18 anni e  $\leq$  65 anni, consenso informato scritto o documento equivalente (ad esempio informazioni scritte) basato sulle normative locali ottenute prima di qualsiasi attività di raccolta dati. I criteri di inclusione per HC erano: età  $\geq$  18 anni e  $\leq$  65 anni e consenso informato scritto o documento equivalente (ad esempio informazioni scritte) basato sulle normative locali ottenute prima di qualsiasi attività di raccolta dati. I criteri di esclusione, sia per AP che per HC, erano età  $<$  18 anni o età  $>$  65 anni, diagnosi di malattia autoimmune sistemica o organo-

specifica, tumore maligno solido o ematologico, terapia con cortisone acetato, terapia sostitutiva con l-tiroxina non ben controllata, diabete o ridotta tolleranza al glucosio, dislipidemia, gravidanza, allattamento e fumo.

Per selezionare i pazienti da escludere ci siamo anche avvalsi di un sistema di monitoraggio in continuo della glicemia: CGMS. Quest'ultimo era integrato ad un monitor multiparametrico fisiologico wireless (dispositivo *all-in-one* compatto e portatile con molteplici funzionalità integrate) in grado di monitorare parametri ECG 24 ore e SpO2 notturna.

### **Valutazione clinica**

La diagnosi di acromegalia è stata eseguita secondo le linee guida, che, nei pazienti con concentrazioni sieriche di IGF1 elevate o equivocate, raccomandano la conferma della diagnosi riscontrando una mancanza di soppressione del GH a  $<0,4 \mu\text{g/L}$ , associata a iperglicemia documentata durante un test da carico orale di glucosio (2 ore dopo 75 g di glucosio orale) [8]. Il controllo biochimico della malattia è stato definito misurando l'IGF1, correlato all'età, e il GH espresso in ng/ml [8].

Sono raccolti retrospettivamente dati provenienti da analisi ematochimiche ed esami strumentali effettuati nell'ambito della buona pratica clinica relativa allo screening delle comorbidità dei pazienti acromegalici.

Al momento del reclutamento, inoltre, tutti pazienti sono stati sottoposti ad esame obiettivo generale e ad esami ematochimici di routine, con valutazione dell'assetto lipidico.

Nei pazienti con una storia passata o presente di cefalea, sono state studiate l'età di esordio e la durata della malattia. Sono state attentamente raccolte le caratteristiche del dolore: laterale, lateralizzazione, qualità e gravità. Utilizzando la Numeric Rating Scale (NRS), i pazienti dovevano valutare l'intensità da 0

("nessun dolore") a 10 ("peggiore dolore possibile"). Sono stati descritti la durata degli attacchi, la loro frequenza e i sintomi associati. È stato registrato l'uso di farmaci di salvataggio e farmaci profilattici, insieme al numero di pillole assunte mensilmente. Per ciascun paziente, è stata attentamente analizzata la relazione temporale tra mal di testa e acromegalia, concentrandosi anche sulle dimensioni del tumore e sull'effetto dei trattamenti per l'acromegalia. Infine, abbiamo tentato di classificare la cefalea di ciascun paziente secondo i criteri della Classificazione Internazionale delle Cefalee (ICHD 3) [84].

### **Valutazione strumentale**

La perfusione ematica periferica (*Peripheral blood perfusion, PBP*) del dorso della mano è stata analizzata mediante *Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA)* (Pericam PIM 3, Perimed, Jarfalla-Stoccolma, Svezia). Lo scanner era perpendicolare alla mano con una distanza di 15 cm, secondo le istruzioni del produttore. Sono state acquisite immagini bidimensionali (area di misura 12x12 cm) alla massima risoluzione temporale e spaziale. È stata fotografata una mano alla volta. Il risultato finale è stata una media delle due mani. La PBP è stata espressa come unità di perfusione arbitraria (*perfusion units, pU*). Sulla base di studi precedenti, il dorso della mano è stato diviso in tre regioni di interesse (ROI): ROI1, ROI2 e ROI3. ROI1 in cui sono incluse le tre dita della mano dal secondo al quarto dito, dall'articolazione interfalangea distale fino all'articolazione interfalangea prossimale [80]. ROI2 includeva l'area tra l'articolazione interfalangea prossimale delle dita e l'articolazione metacarpo-falangea. ROI3 includeva solo il dorso della mano. Il gradiente prossimo-distale (PDG) è stato identificato quando la differenza media di perfusione tra ROI1 e ROI2 era >30 pU. Tutti i valori sono stati calcolati come media di entrambe le mani [85, 86].

Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a risonanza magnetica cerebrale effettuata mediante scanner a 1,5 o 3 Tesla

Oltre allo studio ipofisario, i pazienti sono stati sottoposti a specifiche sequenze per lo studio del parenchima cerebrale. In particolare, sono state utilizzate le seguenti sequenze :

- Una sequenza tridimensionale, gradient-echo, T1-pesata MPRAGE (Magnetization Prepared- Rapid Gradient Echo), che offre un'alta risoluzione spaziale dell'intero encefalo;
- Una sequenza Dual-Echo Turbo Spin Echo, usata per ottenere sia immagini pesate in T2 che in densità protonica (DP);
- Una sequenza tridimensionale, 3D-FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery), che attraverso la soppressione del segnale liquorale, permette una migliore visualizzazione di eventuali alterazioni della sostanza bianca.

Un neuroradiologo, in cieco rispetto alla valutazione clinica, ha analizzato le immagini di risonanza magnetica cerebrale per identificare la presenza di iperintensità della sostanza bianca, lesioni infratentoriali, piccoli infarti sottocorticali, infarti lacunari, *microbleeds* e lesioni con sospetta natura infiammatoria. La lettura è stata effettuata in accordo con il protocollo utilizzato nello studio CAMERA (Cerebral Abnormalities in Migraine, an Epidemiological Risk Analysis study [87]). Sono stati descritti il numero e la localizzazione di lesioni *infarct-like*: queste sono definite come difetti parenchimali privi di effetto massa, con una distribuzione congrua per un dato territorio vascolare e con segnale isointenso rispetto al liquido cerebrospinale. Le alterazioni sopratentoriali devono possedere un bordo iperintenso nelle immagini FLAIR e in quelle in densità protonica. Tali anomalie sono state distinte dagli spazi di

Virchow-Robin, dilatazioni perivascolari con dimensioni, forma e localizzazioni tipiche, mancanti del bordo iperintenso tipico delle lesioni infartuali. Per meglio comprendere la distribuzione delle lesioni e la loro eventuale predominanza in una specifica sede, sono state utilizzate delle mappe topografiche che, attraverso quattro differenti categorie, hanno individuato due principali territori arteriosi (di pertinenza rispettivamente del circolo carotideo e del circolo vertebro-basilare) e due aree con un rifornimento eterogeneo di sangue (gangli della base e corona radiata/centro semiovale).

Le alterazioni della sostanza bianca (WMHs, white matter hyperintensities) sono aree di alterata intensità di segnale, di dimensioni variabili, con le seguenti caratteristiche: 1) sono iperintense nelle immagini pesate in T2 e nelle immagini 3D-FLAIR, in assenza di segni di cavitazione (segnale differente dal liquor cefalorachidiano); 2) non interessano la sostanza grigia profonda ed il troncoencefalo. Sulla base della sede, sono state classificate come periventricolari, come appartenenti alla sostanza bianca profonda o come sottocorticali; per ogni localizzazione, è stato annotato il numero di lesioni.

I pazienti sono successivamente stati suddivisi in categorie in base al carico lesionale (numero di WMH):

- Categoria 0: assenza di lesioni;
- Categoria 1: 1-5 lesioni
- Categoria 2: 6-10 lesioni
- Categoria 3: 11-20 lesioni
- Categoria 4: 21-40 lesioni
- Categoria 5: >40 lesioni

## **Valutazione biochimica**

Sono stati raccolti due campioni di sangue intero (WB): uno ottenuto dai controlli sani HC (n = 40; 13 maschi, 27 femmine) e uno da pazienti con acromegalia attiva (n = 40; 15 maschi, 25 femmine), per determinare IL33, e un solo campione dai pazienti acromegalici AS per la valutazione del profilo autoimmune (C3; C4; Anticorpi antinucleari, ANA; SSa; SSb; Sm; RNP; Scl70; Jo-1; fattore reumatoide; anticorpi anti-peptidi citrullinati, Anti- CCP), proteina C-reattiva (PCR), velocità di eritrosedimentazione (VES); Emocromo.

I livelli sierici di IL33 sono stati determinati con kit ELISA commerciale competitivo (MyBiosource), con una sensibilità di 1 pg/ml e un intervallo di analisi di 0 – 1000 pg/ml. I campioni di sangue venoso periferico sono stati acquisiti in provette contenenti citrato di sodio o EDTA e lasciati a temperatura ambiente per 2 ore per consentire la coagulazione; quindi, i campioni sono stati centrifugati a  $1000 \times g$  per 15 min. I campioni di siero sono stati trasferiti in 1,5 mL di Eppendorf e conservati a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  fino al momento del test, secondo le istruzioni fornite dal produttore.

## **12. Analisi Statistica**

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software SPSS versione 26.0. Il coefficiente di asimmetria e curtosi del test Shapiro-Wilk è stato utilizzato per valutare la normale distribuzione dei dati. Tutti i risultati sono espressi come media e deviazione standard (DS) o mediana e intervallo interquartile (IQR), a seconda dei casi. I confronti tra i due gruppi sono stati effettuati mediante il t test a doppia coda spaiato di Student o il test di Mann-Whitney, a seconda dei casi. Il coefficiente di correlazione prodotto-momento di Pearson o il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman sono stati utilizzati, a seconda dei casi, per verificare le associazioni tra variabili numeriche. Il test del chi quadrato o il test

esatto di Fisher sono stati utilizzati, a seconda dei casi, per confrontare le variabili categoriali. I *P values* < 0,05 sono stati considerati significativi.

### 13. Risultati

La tabella 6 descrive le caratteristiche cliniche e biochimiche dei pazienti con acromegalia.

**Tabella 6.** *Valori analisi cliniche e biochimiche dei pazienti acromegalici (AP)*

PCR, mg/dl, mediana e IQR	0.19 (0.065-0,68)
VES, mm/h, mediana e IQR	16,5 (5,75-22)
C3, mg/dl, mediana e IQR	121 (100,75-136,25)
C4, mg/dl, mediana e IQR	28 (20,15-32.9)
ANA, n (%)	0 (0)
ENA, n (%)	0 (0)
Fattore reumatoide, n (%)	0 (0)
Anti CCP, n (%)	0 (0)

*IQR, intervallo interquartile; PCR, proteina C-reattiva; VES, velocità di eritrosedimentazione; ANA, anticorpi anti-nucleo; ENA, antigeni nucleari estraibili; anti CCP, anticorpi anti-peptidi citrullinati.*

### IL33

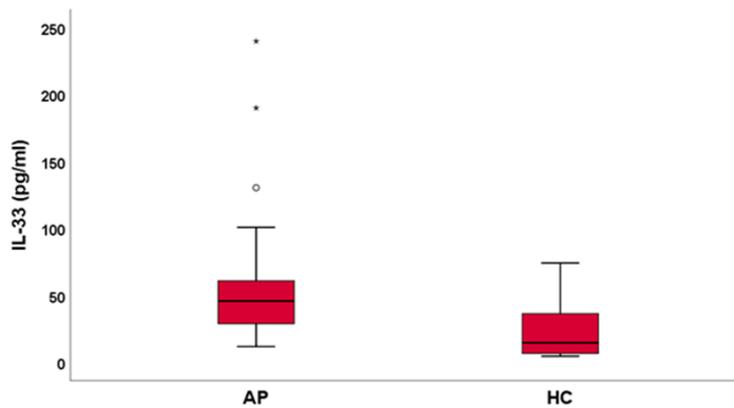
- La mediana dei valori per IL33 era 45.72 (28.74-60.86) pg/ml.[**Tabella 7**].

**Tabella 7.** Valori mediani e intervallo interquartile (IQR) di IL33 nei pazienti acromegalici (AP) e nei controlli sani (HC).

	AP	HC	p
<b>IL33, pg/ml, mediana e IQR</b>	45.72 (28.74-60.86)	14 (6.55-36.35)	<0.05

- L' IL 33 era significativamente più elevato negli AP rispetto ai HC (p <0.05) [Figura 10].

**Figura 10.** Valori di IL33 nei pazienti acromegalici (AP) e nei controlli sani (HC).



## PERFUSIONE

- I valori mediani di PBP e nelle ROI1, ROI2, ROI3 erano rispettivamente: 53.39 (40.94-65.44) pU, 97.32 (50.89-121.69) pU, 58.68 (37.72-84.92) pU, 52.16 (34.47-73.78) pU.
- Il gradiente prossimo-distale (PDG) è stato trovato in 18 (45%) pazienti acromegalici (AP).
- La **Tabella 8** mostra i valori di riferimento mediani per i parametri LASCA.

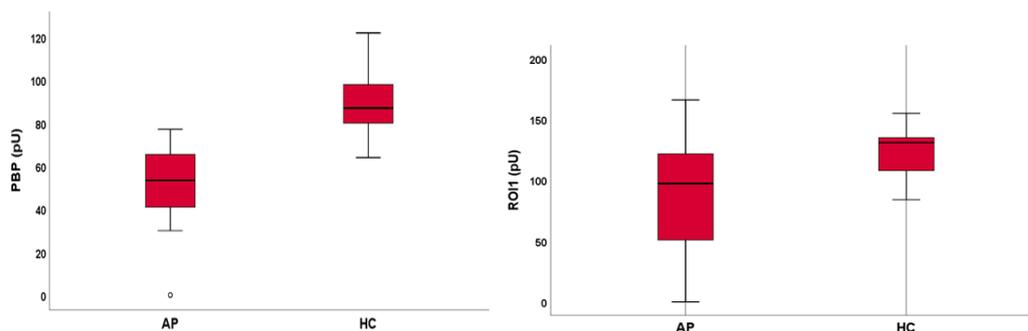
- Nei CS il valore PBP mediano era 87 (80–98) pU con PDG presente in 40 (100%) soggetti.
- PBP, ROI 1, ROI2 e ROI 3 erano significativamente più alti in HC rispetto a AP (p <0,001; p <0,001; P<0,005;p <0,001 rispettivamente) **[Figura 11]**.

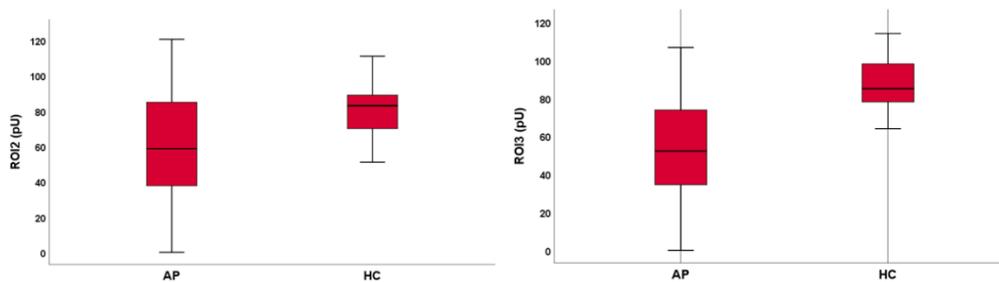
**Tabella 8.** *Perfusione delle mani nei pazienti acromegalici (AP) e nei controlli sani (HC)*

	AP	HC	P
<b>PBP</b> , pU, mediana e IQR	53.39 (40.94–65.44)	87 (80-98)	<0.001
<b>ROI1</b> , pU, mediana e IQR	97.32 (50.89–121.69)	131 (108-135)	<0.001
<b>ROI2</b> , pU, mediana e IQR	58.68 (37.72–84.92)	83 (70-89)	<0.005
<b>ROI3</b> , pU, mediana e IQR	52.16 (34.47–73.78)	85 (78-98)	<0.001
<b>PDG</b> , n (%)	18 (45)	40 (100)	<0.001

*PBP, peripheral blood perfusion; ROI, region of interest; PDG, proximal-distal gradient.*

**Figura 11.** *Valori di perfusione dei pazienti acromegalici (AP) e nei controlli sani (HC).*





Non sono state trovate significative correlazioni tra IL-33, parametri LASCA, e controllo biochimico di malattia [Tabella 9 ].

**Tabella 9** *Correlazione IL33, parametri LASCA e controllo biochimico di malattia (Target)*

Variabili	Target si	Target no	P
IL-33, pg/ml	46.5 (34.6-62.1)	45.3 (27.9-60.9)	>0.05
PBP, pU	49.8 (40.4-66.5)	54.5 (45.5-61.1)	>0.05
ROI1, pU	92.8 (41.8-120.7)	100.7 (81.8-123.1)	>0.05
ROI2, pU	58.4 (32.4-81.2)	67.6 (44.3-84.9)	>0.05
ROI3, pU	52.4 (34.7-75.3)	47.7 (36.1-71.8)	>0.05
PDG, pU	31.5 (4.7-42.9)	30.2 (14.4-42.8)	>0.05

*Tutti I risultati sono espressi come range interquartile (IQR)*

### COMORBIDITA'

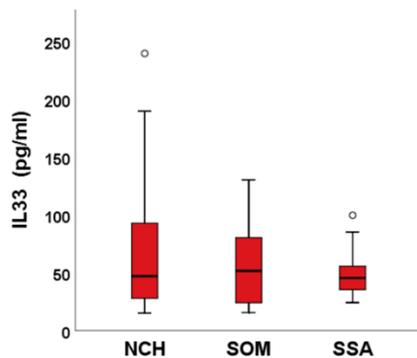
La correlazione tra IL 33 e i parametri LASCA non ha messo in evidenza nessuna significatività.

La presenza di comorbidità (ipertensione, OSAS di qualsiasi grado) non correla con i livelli di IL 33, nè con i parametri LASCA, fatta eccezione per la correlazione statisticamente significativa tra presenza di OSAS di qualsiasi grado e l'aumentato gradiente di perfusione (PDG) (p 0,01).

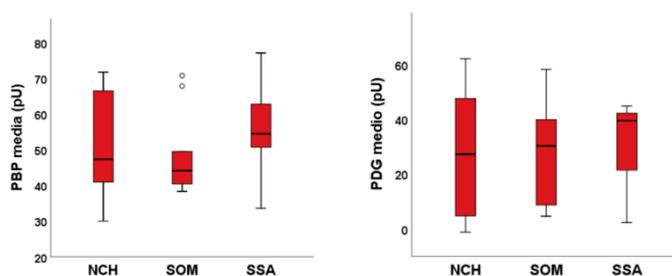
## TRATTAMENTO

Il trattamento con SSA, PEG o Chirurgia non correla con i parametri clinici, biochimici (**Figura 12**) e strumentali (**Figura 12**) presi in esame.

**Figura 12:** Valori di IL33 nei diversi trattamenti con Analoghi della Somatostatina (SSA), Pegvisomant (SOM) e Neurochirurgia (NCH)



**Figura 13:** Valori di Perfusione periferica (PBP) e gradiente di perfusione prossimo distale (PBG) nei diversi trattamenti con Analoghi della Somatostatina (SSA), Pegvisomant (SOM) e Neurochirurgia (NCH)

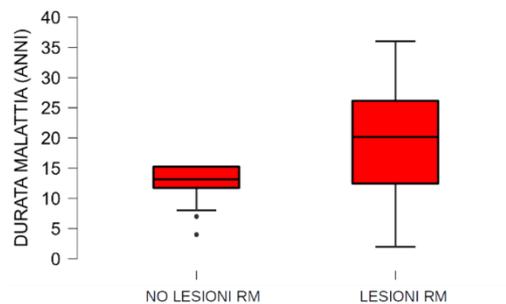


## WMHs

Per la seconda parte dello studio abbiamo selezionato 32/40 (80%) pazienti under 65 per escludere l'interferenza, età-relata, sulla presenza di WMHs.

L'analisi su questa coorte selezionata ha messo in evidenza una correlazione statisticamente significativa tra presenza di WMHs e durata di malattia (p 0,019) [Figura 14]

**Figura 14** *Correlazione WMHs e durata di malattia*

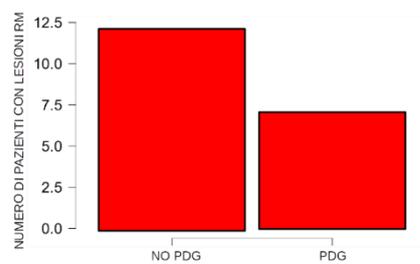


Non ci sono differenze statisticamente significative tra sesso, età, latenza diagnostica, controllo biochimico di malattia (Target), OSAS e presenza di WMHs (p > 0,05).

Non ci sono differenze statisticamente significative tra IL33 e presenza di WMHs.

Vi è una correlazione statisticamente significativa tra presenza di WMHs e assenza di PDG al LASCA (p 0,038) [Figura 15].

**Figura 15:** *Correlazione tra assenza di gradiente prossimo distale e WMHs*



Vi è una correlazione statisticamente significativa tra ipertensione arteriosa e maggior carico lesionale (categoria > o uguale a 3) (p 0,035)

#### Emicrania

I pazienti con cefalea primaria sono 19/32 (59,3%) di cui 17/32 (53,1%) hanno emicrania e 2/32 (6,25%) cefalea muscolo-tensiva.

Non ci sono differenze statisticamente significative (> p 0,05) tra il parametro Migraine e WMHs, IL33, parametri LASCA e Ipertensione/OSAS.

## **14 . Discussione**

Nell'acromegalia l'oversecrezione di ormone della crescita (GH) stimola la produzione endogena del fattore di crescita 1 insulino-simile (IGF-I), principalmente dal fegato, ma diverse altre cellule, incluse quelle del sistema autoimmune, sono coinvolte [34,88].

Gli effetti immunomodulanti dell' IGF-I sono stati descritti principalmente nei linfociti [40] e nello sviluppo di un'inflammatione subclinica attraverso l'attivazione proinflammatoria dei monociti periferici [47].

Sebbene i meccanismi esatti con cui GH o IGF1 potrebbero influenzare le cellule infiammatorie non siano completamente compresi, uno stato pro-inflammatorio nei pazienti con acromegalia è stato confermato in molti studi recenti [89,90].

Supportati dai dati in letteratura inerenti alla capacità del GH e dell'IGF-I di stimolare le cellule dell'immunità innata e adattativa e la conseguente produzione di citochine, in precedenza abbiamo avviato uno studio pilota, il cui obiettivo era quello di studiare il profilo microvascolare dei pazienti con acromegalia e valutare lo stato proinflammatorio dei pazienti grazie all'analisi

un *marker* che ha acquisito un recente interesse per il suo ruolo importante nell' innesco di uno stato pro-infiammatorio: IL-33 [91].

I risultati dello studio pilota su 20 pazienti con acromegalia e 20 controlli sani appaiati per sesso, età e BMI, hanno dimostrato che IL-33 è più alta nei pazienti con acromegalia rispetto ai controlli sani, a fronte di valori nel range di normalità di marcatori dell'infiammazione come VES e PCR [91].

Primo dato interessante è che gli stessi risultati si sono ottenuti su un campione più ampio di pazienti (40), confermando che nei pazienti con acromegalia l'infiammazione è persistente per l'aumento della citochina proinfiammatoria IL-33, indipendentemente dal controllo biochimico di malattia.

Anche Wolters et al. hanno osservato un'infiammazione cronica nei pazienti con acromegalia sia controllata che non controllata. I cambiamenti più profondi nello stato infiammatorio sono stati riscontrati in pazienti non controllati nonostante il trattamento. Questi cambiamenti infiammatori persistenti potrebbero contribuire alla disfunzione endoteliale sostenuta osservata nei pazienti trattati con successo e aggiungersi allo sviluppo e alla persistenza del rischio cardiovascolare nei pazienti con acromegalia controllata [52].

IL33 è particolarmente espressa nelle EC e durante l'infiammazione acuta agisce come "alarmin" e viene rilasciata nei tessuti danneggiati con lo scopo specifico di modulare le risposte proinfiammatorie. Recenti studi hanno dimostrato che IL33 promuove l'angiogenesi e la permeabilità vascolare in vitro e in vivo [92-94]. Studi più recenti hanno dimostrato che l'interazione tra IL33 e il recettore ST2 attenua la risposta immunitaria caratteristica dell'aterosclerosi. Al contrario, l'ST2 solubile (sST2) agisce come un recettore esca per IL33, bloccando così i suoi effetti protettivi nelle malattie cardiovascolari (CVD) [95-96].

Nei pazienti con acromegalia, possiamo supporre che l'infiammazione persistente sia responsabile di comorbidità come la CVD. I pazienti con acromegalia sono affetti da cardiomiopatia, ma alla luce di queste nuove evidenze non è chiaro se essa sia associata all'IGF-I come fattore pleiotropico, che si trova nel circolo ed è prodotto localmente anche nelle arterie (cellule endoteliali e cellule muscolari lisce) [97] o danno infiammatorio al microcircolo. L'osservazione, in precedenti studi, di una significativa correlazione tra le concentrazioni plasmatiche di IGF-I e il rapporto media-lume delle piccole arterie sottocutanee in pazienti con acromegalia, suggerisce certamente un ruolo sostanziale dell'ormone nella genesi del rimodellamento ipertrofico vascolare [97]. I nostri dati ancora preliminari dovranno essere supportati da studi futuri che dimostrino danni nelle piccole arterie cardiache e nei cardiomiociti.

Per la prima volta nello studio preliminare abbiamo dimostrato che nei pazienti con acromegalia la perfusione cutanea è compromessa senza alterazioni morfologiche dei capillari. Lo stesso dato è stato confermato anche nella più ampia casistica di 40 pazienti in oggetto nel nostro studio.

Inoltre, abbiamo dimostrato che nel PDG è assente nel 55% dei pazienti. In LASCA, la riduzione di PBP con assenza di PDG è associata a disfunzione funzionale del microcircolo delle mani. Maison et al hanno dimostrato che la capacità delle cellule lisce vascolari di produrre vasodilatazione cutanea è normale, ma la vasodilatazione endotelio-dipendente è compromessa. Inoltre, la risposta vasocostrittrice mediata dal simpatico è aumentata nei pazienti con acromegalia [98]. Anche Paisley et al hanno dimostrato che l'acromegalia attiva è associata al rimodellamento ipertrofico della parete vascolare e alla funzione endoteliale compromessa a causa della riduzione dell'ossido nitrico ed endotelio relata [99]. Possiamo supporre che la disfunzione endoteliale svolga un ruolo chiave nella riduzione della PBP e nell'assenza di PDG. Questa disfunzione

endoteliale può contribuire all'ipertensione e rappresentare un fattore di rischio per complicanze cardiovascolari nell'acromegalia.

I bias del precedente studio relativi all'analisi delle comorbidità e del trattamento specifico della malattia di base, sono stati colmati nel progetto attuale.

Dall'analisi delle comorbidità è emerso che i pazienti con OSAS hanno un più alto gradiente di perfusione prossimo distale.

Non è ancora noto se ciò possa avere una correlazione con la perfusione polmonare nei pazienti acromegalici. Precedenti studi sulla sclerosi sistemica (SSc) non hanno trovato una correlazione statisticamente significativa tra la PBP, il test per la capacità di diffusione del monossido di carbonio DLCO nei polmoni e l'ipertensione arteriosa polmonare (PAH) [100]. Potrebbe essere importante rivalutare questo risultato nei pazienti acromegalici, anche alla luce di un nostro precedente studio [101] in cui è stata mostrata una correlazione positiva tra i livelli sierici di IGF1 basale e DLCO/VA, con aumento di quest'ultimo parametro alla spirometria effettuata ai pazienti con acromegalia.

La neoangiogenesi e in particolare un'aumentata capillarizzazione alveolare, come risposta all'infiammazione, alle alterazioni della perfusione e all'ipossia, potrebbe giustificare così l'aumento di DLCO nei pazienti acromegalici con OSAS.

Infine, in letteratura non è noto se i trattamenti per l'acromegalia possano svolgere un ruolo come modulatori del processo infiammatorio.

Ci sono pochi studi interessanti in letteratura su un controverso effetto immunomodulatore di Pegvisomant [102]. Questi ultimi sono stati condotti su colture di cellule epiteliali timiche (TEC) e colture di timo fetale (FTOC). Dai risultati si evince che le proprietà timotropiche dell'asse GH/IGF1 implicano un'interazione tra GH e GHR esogeno espressi dalle cellule epiteliali del timo.

L'inibizione degli effetti del GH da parte di Pegvisomant sostiene fortemente la specificità dell'effetto del GH sul timo mediante la *downregulation* dell'espressione del GHR, con una parallela diminuzione della trascrizione dell'IGF1 timico. Altri studi suggeriscono che la complessa impronta immunologica alterata e i segni di danno endoteliale dei pazienti con acromegalia sono solo parzialmente normalizzati dal trattamento specifico della malattia [103].

Ad ogni modo il nostro studio non ha messo in luce nessuna possibile correlazione tra trattamento con Analogo della Somatostatina, Pegvisomant e/o Neurochirurgia e aspetti infiammatori e microvascolari. Questo a dimostrazione che il danno infiammatorio e microvascolare sono strettamente dipendenti dalla sottostante patologia e non sono influenzati dalla scelta del trattamento.

Analogamente ad altri sistemi di organi, il sistema nervoso centrale può essere influenzato dall'esposizione a lungo termine a livelli aumentati di GH e IGF-1.

Pertanto, oggetto della nostra analisi è stato valutare se questo stato infiammatorio e danno microvascolare, associato agli elevati livelli di IGF1, siano responsabili di danni al parenchima cerebrale, in particolar modo nei pazienti con acromegalia più giovani.

Dal nostro lavoro emerge che i pazienti acromegalici non presentavano lesioni infarct-like o lesioni infratentoriali. Tuttavia, in questi pazienti erano presenti alterazioni della sostanza bianca, il cui numero era significativamente influenzato dalla durata dell'acromegalia (con un maggior numero di lesioni associato a una più lunga durata di malattia). E' lecito supporre che la malattia predisponga dunque allo sviluppo di alterazioni gliotiche.

Inoltre dalla stessa analisi è emerso che l'assenza di PDG, come indice di disfunzione endoteliale, correla positivamente con la presenza di WMHs così come l'ipertensione arteriosa è correlata ad un maggior carico lesionale.

Pertanto potremmo ipotizzare, in accordo anche con lo studio di Sievers del 2009 [70], che una più lunga durata di malattia e l'esposizione per un lungo lasso di tempo ad elevati livelli di IGF potrebbero predisporre alla disfunzione endoteliale, che insieme all'ipertensione, potrebbero essere responsabili dell'insorgenza di WMHs.

In questo nostro studio, a differenza di quanto emerso dai dati di Sievers, non vi è correlazione con il dato metabolico, questo potrebbe essere dovuto al bias della selezione della coorte di studio e alla necessità di escludere i pazienti con malattia metabolica per rendere più veritiera l'analisi sui parametri infiammatori e analisi del microcircolo.

In ogni caso, la presenza di WMHs non può essere trascurata e rende obbligatorio un monitoraggio e trattamento delle comorbidità vascolari con particolare attenzione all'ipertensione arteriosa. Peraltro, l'accumulo di danno secondario alla microangiopatia, potrebbe favorire la precoce comparsa di deficit cognitivi in questi pazienti.

In quest'ottica, al fine di contrastare lo sviluppo sia di deficit cognitivi che funzionali e di preservare lo stato di autonomia, si potrebbe pensare che i pazienti con acromegalia possano beneficiare di un precoce trattamento con terapia antiaggregante, che va unita al controllo dei restanti fattori di rischio cardiovascolare.

Viceversa, le WMHs non sembrerebbero avere origine dal fattore "emicrania".

D'altra parte, più della metà della popolazione giovane presa in esame (53,1%) presenta emicrania, in linea con quanto emerso dai dati della letteratura (33-72%)

[72], ma non emerge una correlazione tra emicrania e : WMHs, IL33, parametri LASCA e ipertensione.

Quindi, dalla nostra analisi l'emicrania non sembrerebbe correlata né allo stato infiammatorio, limitatamente alla valutazione dell'IL33, né al gradiente di perfusione prossimo distale del LASCA .

In effetti, come già evidenziato anche dagli studi di Levy et al [74-75] l'eziopatogenesi dell'emicrania legata agli adenomi ipofisari rimane in gran parte sconosciuta.

Inoltre, ulteriori dati non pubblicati di un nostro recente studio confermano quanto già è noto dalla letteratura scientifica, ovvero che la fisiopatologia dell'emicrania è solo parzialmente giustificata da fattori meccanici, quali le dimensioni del tumore, l'allungamento durale e l'invasione del seno cavernoso [75].

È ormai noto, inoltre, che solo una percentuale dei pazienti sottoposti a intervento di neurochirurgia riscontra una significativa riduzione del mal di testa [76]. Inoltre, nuove strategie, come l'uso di analoghi della somatostatina a lunga durata d'azione, sembrano dare un contributo limitato [77].

Quindi l'insieme di tutti i nostri dati suggeriscono che i pazienti con acromegalia possono avere una predisposizione genetica alla cefalea primaria e, in particolare, all'emicrania, come suggerito anche da Schankin nel 2012 [104].

In soggetti predisposti quindi, l'acromegalia potrebbe promuovere alterazioni in grado di condizionare la complessa fisiopatologia dell'emicrania, modificando la soglia di insorgenza degli attacchi e influenzando la gravità della malattia.

In questa luce, la cefalea potrebbe diventare una comorbilità invalidante nei pazienti con acromegalia.

Nonostante queste conclusioni a cui giungiamo attraverso questo studio, non è possibile comunque escludere che l'acromegalia possa favorire la comparsa di emicrania anche attraverso il noto stato infiammatorio, indipendente dal ruolo dell'IL33. L'aumentato stress ossidativo che ne consegue potrebbe a sua volta provocare una disfunzione endoteliale "centrale". Tale alterazione comporta modifiche del tono vascolare e della coagulabilità, che potrebbero partecipare alla genesi dell'attacco.

A differenza della controparte periferica, che può essere studiata efficacemente tramite il LASCA, la disfunzione endoteliale "centrale" non può essere investigata direttamente ma potrebbe essere dedotta da studi di neurofisiologia, aggregabilità piastrinica e perfusione cerebrale.

## **15. Conclusioni**

Il paziente affetto da acromegalia presenta uno stato infiammatorio cronico la cui patogenesi non è ancora del tutto nota e l'indagine di nuovi fattori infiammatori potrebbe avere un impatto importante sul bersaglio terapeutico.

Il Laser doppler, di facile esecuzione e non invasivo, potrebbe entrare nella routine dello screening delle comorbidità del paziente con acromegalia come valutazione indiretta del danno d'organo.

E' opportuno, a nostro avviso, estendere la valutazione neuroimaging non solo allo studio della sella turcica, ma anche all'intero encefalo al fine di poter sfruttare l'eventuale presenza di lesioni gliotiche come marker di patologia neurovascolare soprattutto nei pazienti con acromegalia più giovani, che potrebbero beneficiare di una precoce terapia antiaggregante.

Infine, l'emicrania può avere un impatto drammatico sulle attività quotidiane e sulla qualità della vita dei pazienti: per questo motivo richiede un'attenta valutazione e una gestione mirata.

#### **16. Prospettive future**

Sarebbe interessante valutare e approfondire il ruolo del complesso IGF1/insulina resistenza/fattori proinfiammatori/danno endoteliale su una casistica di acromegalici in trattamento o meno con metformina con o senza diabete manifesto.

## Bibliografia

- [1] Shlomo Melmed, M.B., Ch.B. Acromegaly, *N Engl J Med* 2006; 355:2558-2573 December 14, 2006
- [2] Giustina A. Linee guida diagnostico-terapeutiche dell'acromegalia: qualcosa di nuovo, anzi, di relativamente antico. *Expert Rev.Endocrinol.Metab.SpecialIssue*, N.2, 2012
- [3] Cozzi R, Montini M, Attanasio R, Albizzi M, Lasio G, Lodrini S, Doneda P, Cortesi L, Pagani G. Primary treatment of acromegaly with octreotide LAR: a long-term (up to nine years) prospective study of its efficacy in the control of disease activity and tumor shrinkage. *J ClinEndocrinolMetab.* 2006 Apr;91(4):1397-403.
- [4] Maione L, Garcia C, Bouchachi A, Kallel N, Maison P, Salenave S, Young J, Assayag P, Chanson P. No evidence of a detrimental effect of cabergoline therapy on cardiac valves in patients with acromegaly. *J ClinEndocrinolMetab.* 2012 Sep;97(9):E1714-9.
- [5] Iandelli I, Gorini M, Duranti R, Bassi F, Misuri G, Pacini F, Rosi E, Scano G. Respiratory muscle function and control of breathing in patients with acromegaly. *EurRespir J.* 1997 May;10(5):977-82.
- [6] Colao A, Ferone D, Marzullo P & Lombardi G. Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. *Endocrine Reviews* 2004;25:102–152.
- [7] Carmichael JD, Bonert VS, Mirocha JM, Melmed S. The utility of oral glucose tolerance testing for diagnosis and assessment of treatment outcomes in 166 patients with acromegaly. *J ClinEndocrinolMetab.* 2009;94:523-527.
- [8] Orme SM, McNally RJ, Cartwright RA, Belchetz PE. Mortality and cancer incidence in acromegaly: a retrospective cohort study. *J ClinEndocrinolMetab.* 1998 Aug;83(8):2730-
- [9] Giustina A, Barkan A, Casanueva FF, Cavagnini F, Frohman L, Ho K, Veldhuis J, Wass J, Von Werder K, Melmed S. Criteria for cure of acromegaly: a consensus statement. *J ClinEndocrinolMetab.* 2000 Feb;85(2):526-9. Review

[10] Katznelson L, Atkinson JL, Cook DM, Ezzat SZ, Hamrahian AH, Miller KK; American Association of Clinical Endocrinologists. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of acromegaly--2011 update. *EndocrPract.* 2011 Jul-Aug;17 Suppl 4:1-44.

[11] Giustina A, Chanson P, Bronstein MD, Klibanski A, Lamberts S, Casanueva FF, Trainer P, Ghigo E, Ho K, Melmed S; Acromegaly Consensus Group. A consensus on criteria for cure of acromegaly. *J ClinEndocrinolMetab.* 2010 Jul;95(7):3141-8. doi: 10.1210/jc.2009-2670.

[12] Laurence Katznelson, Edward R. Laws, Jr, Shlomo Melmed, Mark E. Molitch, Mohammad Hassan Murad, Andrea Utz, and John A. H. Wass. Acromegaly: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *EndocrinolMetab*, November 2014, 99(11):3933–3951.

[13] Colao A, Pivonello R, Auriemma RS, Briganti F, Galdiero M, Tortora F, Caranci F, Cirillo S, Lombardi G. Predictors of tumor shrinkage after primary therapy with somatostatin analogs in acromegaly: a prospective study in 99 patients. *J ClinEndocrinolMetab.* 2006 Jun;91(6):2112-8.

[14] Zhang N, Pan L, Wang EM, Dai JZ, Wang BJ, Cai PW. Radiosurgery for growth hormone-producing pituitary adenomas. *J Neurosurg.* 2000;93(suppl 3):6-9.

[15] Ronchi CL, Varca V, Beck-Peccoz P, Orsi E, Donadio F, Baccarelli A, Giavoli C, Ferrante E, Lania A, Spada A, Arosio M. Comparison between six-year therapy with long-acting somatostatin analogs and successful surgery in acromegaly: effects on cardiovascular risk factors. *J ClinEndocrinolMetab* 2006; 91:121-8.

[16] Melmed S, Casanueva F, Cavagnini F, Chanson P, Frohman LA, Gaillard R, Ghigo E, Ho K, Jaquet P, Kleinberg D, Lamberts S, Laws E, Lombardi G, Sheppard MC, Thorner M, Vance ML, Wass JA, Giustina A. Consensus statement: medical management of acromegaly. *Eur J Endocrinol.* 2005 Dec;153(6):737-40.

[17] Melmed S, Colao A, Barkan A, Molitch M, Grossman AB, Kleinberg D, Clemmons D, Chanson P, Laws E, Schlechte J, Vance ML, Ho K, Giustina A;

Acromegaly Consensus Group. Guidelines for acromegaly management: an update. *J ClinEndocrinolMetab.* 2009 May;94(5):1509-17. doi: 10.1210/jc.2008-2421.)

[18] A Consensus Statement on acromegaly therapeutic outcomes Shlomo Melmed<sup>1</sup>, Marcello D. Bronstein, Philippe Chanson, Anne Klibanski, Felipe F. Casanueva, John A. H. Wass, Christian J. Strasburger, Anton Luger, David R. Clemmons and Andrea Giustina

[19] Pereira AM, van Thiel SW, Lindner JR, Roelfsema F, van der Wall EE, Morreau H, Smit JW, Romijn JA, Bax JJ. Increased prevalence of regurgitant valvular heart disease in acromegaly. *J ClinEndocrinolMetab.*2004 Jan;89(1):71-5.

[20] Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Tsujino M, Adachi S, Shichiri M, Koike A, Nogami A, Marumo F. Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes.*Circulation.* 1993 May;87(5):1715-21.

[21] Chen DB, Wang L, Wang PH. Insulin-like growth factor I retards apoptotic signaling induced by ethanol in cardiomyocytes.*Life Sci.* 2000 Aug 25;67(14):1683-93.)

[22]Giustina A, Casanueva FF, Cavagnini F, Chanson P, Clemmons D, Frohman LA, Gaillard R, Ho K, Jaquet P, Kleinberg DL, Lamberts SW, Lombardi G, Sheppard M, Strasburger CJ, Vance ML, Wass JA, Melmed S; Pituitary Society and the European Neuroendocrine Association. Diagnosis and treatment of acromegaly complications. *J Endocrinol Invest.* 2003 Dec;26(12):1242-7.)

[23] Saccà L, Cittadini A, Fazio S. Growth hormone and the heart.*Endocr Rev.* 1994 Oct;15(5):555-73. Review.

[24] Melmed S, Casanueva FF, Klibanski A, Bronstein MD, Chanson P, Lamberts SW, Strasburger CJ, Wass JA, Giustina A. A consensus on the diagnosis and treatment of acromegaly complications.*Pituitary.* 2012 Aug 18.

[25] I. Potorac et al., "Pituitary MRI characteristics in 297 acromegaly patients based on T2-weighted sequences," *Endocr Relat Cancer*, vol. 22, no. 2, pp. 169–177, Apr. 2015, doi: 10.1530/ERC-14-0305.

- [26] M. E. Ladd et al., "Pros and cons of ultra-high-field MRI/MRS for human application," *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*, vol. 109, pp. 1–50, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.pnmrs.2018.06.001.
- [27] R. R. Lonser, B. A. Kindzelski, G. U. Mehta, J. A. Jane, and E. H. Oldfield, "Acromegaly without Imaging Evidence of Pituitary Adenoma," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 95, no. 9, pp. 4192–4196, Sep. 2010, doi: 10.1210/jc.2010-0570.
- [28] A. M. Hannon, C. J. Thompson & M. Sherlock. Diabetes in Patients With Acromegaly. *Current Diabetes Reports* volume 17, Article number: 8 (2017).
- [29] del Rincon JP, Iida K, Gaylinn BD, McCurdy CE, Leitner JW, Barbour LA, et al. Growth hormone regulation of p85alpha expression and phosphoinositide 3-kinase activity in adipose tissue: mechanism for growth hormone-mediated insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(6):1638–46.
- [30] Ferraù F., Albani A., Ciresi A., Giordano C., Cannavò S. Diabetes Secondary to Acromegaly: Physiopathology, Clinical Features and Effects of Treatment *Front Endocrinol* 2018
- [31] Sandrine Fieffe , Isabelle Morange, Patrick Petrossians, Philippe Chanson, Vincent Rohmer, Christine Cortet, Françoise Borson-Chazot, Thierry Brue, Brigitte Delemer, French Acromegaly Registry. Diabetes in acromegaly, prevalence, risk factors, and evolution: data from the French Acromegaly Registry. *Eur J Endocrinol*, 2011 Jun;164(6):877-84.
- [32] Niels Møller, Jens Otto Lunde Jørgensen. Effects of Growth Hormone on Glucose, Lipid, and Protein Metabolism in Human Subjects. *Endocrine Reviews*, Volume 30, Issue 2, 1 April 2009, Pages 152–177.
- [33] Ian M. Holdaway, Raja C. Rajasoorya, Greg D. Gamble. Factors Influencing Mortality in Acromegaly *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 89, Issue 2, 1 February 2004, Pages 667–674.
- [34] Monica R. Gadelha, Leandro Kasuki, Dawn S. T. Lim, and Maria Fleseriu. Systemic Complications of Acromegaly and the Impact of the Current Treatment Landscape: An Update. *Endocrine Reviews*, 2018.
- [35] J.P.Peyrat M.M.Louchez J.LefebvreJ.Bonnetterre P.Vennin A.Demaille B.Helquet C.Fournier. Plasma insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentrations

in human breast cancer. *European Journal of Cancer*, Volume 29, Issue 4, 1993, Pages 492-497

[36] Ortona E, Pierdominici M, Rider V. Sex Hormones and Gender Differences in Immune Responses. *Front Immunol*. 2019 May 9;10:1076

[37] J E Blalock, D Harbour-McMenamin, E M Smith. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems. *J Immunol*. 1985

[38] Richard R. Gala. Prolactin and Growth Hormone in the Regulation of the Immune System. *Experimental Biology and Medicine*. 1991

[39] Kermani H, Goffinet L, Mottet M, Bodart G, Morrhaye G, Dardenne O, Renard C, Overbergh L, Baron F, Beguin Y, Geenen V, Martens HJ (2012) Expression of the growth hormone/insulin-like growth factor axis during Balb/c thymus ontogeny and effects of growth hormone upon ex vivo T cell differentiation. *NeuroImmunoModulation* 19(3):137–147. <https://doi.org/10.1159/000328844>. (Epub 2012 Jan 18)

[40] Esther Imperlini, Sara Spaziani, Annamaria Mancini, Marianna Caterino, Pasqualina Buono, Stefania Orrù. Synergistic effect of DHT and IGF-1 hyperstimulation in human peripheral blood lymphocytes. *Proteomics* 08 February 2015

[41] Naoki Hattori. Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. *Growth Horm IGF Res*. 2009 Jun;19(3):187-97. doi: 10.1016/j.ghir.2008.12.001.

[42] H. Wu, J. Wang, J.T. Cacioppo, R. Glaser, J.K. Kiecolt-Glaser, W.B. Malarkey. Chronic stress associated with spousal caregiving of patients with Alzheimer's dementia is associated with downregulation of B-lymphocyte GH mRNA. *J. Gerontol. A: Biol. Sci. Med. Sci.*, 54 (1999)

[43] Arisya Agita, M Thaha Alsagaff. Inflammation, Immunity, and Hypertension. *Acta Med Indones*. 2017 Apr;49(2):158-165.

[44] By Barrows, Ian R.; Ramezani, Ali; Raj, Dominic S. Inflammation, Immunity, and Oxidative Stress in Hypertension—Partners in Crime? In *Advances in Chronic Kidney Disease*. March 2019 26(2):122-130 DOI: 10.1053/j.ackd.2019.03.001,

- [45] Tuskova V, Trachta P, Kavalkova P, Drapalova J, Haluzikova D, Mraz M, Lacinova Z, Marek J & Haluzik M 2012 Serum concentrations and tissue expression of components of insulin-like growth factor-axis in females with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of very-low-calorie diet. *Molecular and Cellular Endocrinology* 361 172–178.
- [46] Ucler R, Aslan M, Atmaca M, Alay M, Ademoglu EN & Gulsen I 2015 Evaluation of blood neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratios according to plasma glucose status and serum insulin-like growth factor 1 levels in patients with acromegaly. *Human and Experimental Toxicology* 46 748–748.
- [47] G Renier, I Clément, A C Desfaits, A Lambert Direct stimulatory effect of insulin-like growth factor-I on monocyte and macrophage tumor necrosis factor- $\alpha$  production. *Endocrinology*, Volume 137, Issue 11, 1 November 1996, Pages 4611–4618,
- [48] Ron Kooijman and Astrid Coppens Insulin-like growth factor-I stimulates IL-10 production in human T cells *Journal of Leukocyte Biology* 26 July 2004
- [49] Arikan S, Bahceci M, Tuzcu A & Gokalp D 2009 Serum tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-8 levels in acromegalic patients: acromegaly may be associated with moderate inflammation. *Clinical Endocrinology* 70 498–499.
- [50] Thalijn Liliana Catharina Wolters , Mihai Gheorghe Netea , Adrianus Rudolfus Marinus Maria Hermus , Johannes Willem Adriaan Smit , Romana Teodora Netea-Maier. IGF1 potentiates the pro-inflammatory response in human peripheral blood mononuclear cells via MAPK *J Mol Endocrinol.* 2017 Aug;59(2):129-139. doi: 10.1530/JME-17-0062. Epub 2017 Jun 13.
- [51] Wolters TLC, Netea MG, Riksen NP, Hermus ARMM, Netea-Maier RT. Acromegaly, inflammation and cardiovascular disease: a review. *Rev Endocr Metab Disord.* 2020 Dec;21(4):547-568. doi: 10.1007/s11154-020-09560-x.
- [52] Wolters TLC, van der Heijden CDCC, van Leeuwen N, Hijmans-Kersten BTP, Netea MG, Smit JW, Thijssen DHJ, Hermus A, Riksen NP, Netea-Maier R. Persistent inflammation and endothelial dysfunction in patients with treated acromegaly. *Endocr Connect.* 2019 Dec;8(12):1553-1567. doi: 10.1530/EC-19-0430

- [53] Moore, Kevin. Interleukin-10 and the Interleukin-10 Receptor. Annual review of immunology Volume: 19 Issue 1 (2001) ISSN: 0732-0582 Online ISSN: 1545-3278
- [54] Marija Milovanovic, Vladislav Volarevic, Gordana Radosavljevic, Ivan Jovanovic, Nada Pejnovic, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. IL-33/ST2 axis in inflammation and immunopathology, *Immunol Res* 2012 Apr;52(1-2):89-99. doi: 10.1007/s12026-012-8283-9.
- [55] Xu D, Chan WL, Leung BP, Huang F, Wheeler R, Piedrafita D, Robinson JH, Liew FY. Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. *J Exp Med*. 1998;187(5):787-94.
- [56] Lee JS, Seppanen E, Patel J, Rodero MP, Khosrotehrani K. ST2 receptor invalidation maintains wound inflammation, delays healing and increases fibrosis. *Exp Dermatol*. (2016) 25:71-4. doi: 10.1111/exd.12833
- [57] Altara R, Ghali R, Mallat Z, Cataliotti A, Booz GW, Zouein FA. Conflicting vascular and metabolic impact of the IL-33/sST2 axis. *Cardiovasc Res*. 2018 Oct 1;114(12):1578-1594. doi: 10.1093/cvr/cvy166.
- [58] Pellicano C, Iannazzo F, Romaggioli L, Rosato E. IL33 and sST2 serum level in systemic sclerosis microvascular involvement. *Microvasc Res*. 2022 Feb 16;142:104344. doi: 10.1016/j.mvr.2022.104344
- [59] Yuan Sun , Holly Pavey, Ian Wilkinson, Marie Fisk Role of the IL-33/ST2 axis in cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis . *PLoS One* 2021 Nov 1;16(11):e0259026. doi: 10.1371/journal.pone.0259026.
- [60] FDA. Substantial Equivalence Determination Decision Summary Assay Only Template 2020 [cited 2020 17/07/2020]. Available from: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/reviews/K111452.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K111452.pdf).
- [61] Conti, Fiorenzo, Battaglini, Piero Paolo e Mora, Edoardo, *Fisiología Médica*, McGraw-Hill, 2010
- [62] R.F. Tuma e W.N. Duran, *Handbook of physiology - Microcirculation*, Academic Press-Elsevier, 2008.
- [63] The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998

- [64] Barbara Ruaro, Vanessa Smith, Alberto Sulli, Carmen Pizzorni, Samuele Tardito, Massimo Patané, Sabrina Paolino, Maurizio Cutolo. Innovations in the Assessment of Primary and Secondary Raynaud's Phenomenon *Front Pharmacol.* 2019 Apr
- [65] Vanessa Smith , Ariane L Herrick , Francesca Ingegnoli et al. Standardisation of nailfold capillaroscopy for the assessment of patients with Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis, EULAR Study Group on Microcirculation in Rheumatic Diseases and the Scleroderma Clinical Trials Consortium Group on Capillaroscopy
- [66] Maurizio Cutolo, Amelia C. Trombetta, et. Al. Automated assessment of absolute nailfold capillary number on videocapillaroscopic images: Proof of principle and validation in systemic sclerosis. *Microcirculation.* 2018 May;25(4):e12447. doi: 10.1111/micc.12447.
- [67] Maurizio Cutolo, Karin Melsens, et.al. Reliability of simple capillaroscopic definitions in describing capillary morphology in rheumatic diseases, EULAR Study Group on Microcirculation in Rheumatic Diseases
- [68] Edoardo Rosato a, Antonietta Gigante et al. In systemic sclerosis macrovascular damage of hands digital arteries correlates with microvascular damage *Microvasc Res.* 2011 Nov;82(3):410-5. doi: 10.1016/j.mvr.2011.07.009. Epub 2011 Jul 24
- [69] Taoyang Yuan et al. In Vivo Characterization of Cortical and White Matter Microstructural Pathology in Growth Hormone-Secreting Pituitary Adenoma . *Front. Onc* (2021).
- [70] Sievers et al. Macroscopic brain architecture changes and white matter pathology in acromegaly: a clinicopathological study, *Pituitary* 2009.
- [71] Smith EE, Gurol ME, Eng JA, Engel CR, Nguyen TN, Rosand J et al (2004) White matter lesions, cognition, and recurrent hemorrhage in lobar intracerebral hemorrhage. *Neurology* 63:1606–1612
- [72]. Gondim JA, de Almeida JP, de Albuquerque LA, Schops M, Gomes E, Ferraz T. Headache associated with pituitary tumors. *J Headache Pain.* 2009 Feb;10(1):15-20. doi: 10.1007/s10194-008-0084-0. Epub 2008 Dec 9. PMID: 19067118; PMCID: PMC3451766.

- [73]. Kreitschmann-Andermahr I, Siegel S, Weber Carneiro R, Maubach JM, Harbeck B, Brabant G. Headache and pituitary disease: a systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Dec;*79*(6):760-9. doi: 10.1111/cen.12314. Epub 2013 Sep 20. PMID: 23941570.
- [74]. Levy MJ, Matharu MS, Meeran K, Powell M, Goadsby PJ. The clinical characteristics of headache in patients with pituitary tumours. *Brain*. 2005 Aug;*128*(Pt 8):1921-30. doi: 10.1093/brain/awh525. Epub 2005 May 11. PMID: 15888539.
- [75]. Levy MJ, Jäger HR, Powell M, Matharu MS, Meeran K, Goadsby PJ. Pituitary volume and headache: size is not everything. *Arch Neurol*. 2004 May;*61*(5):721-5. doi: 10.1001/archneur.61.5.721. PMID: 15148150.
- [76.] Siegel S, Weber Carneiro R, Buchfelder M, Kleist B, Grzywotz A, Buslei R, Bingel U, Brabant G, Schenk T, Kreitschmann-Andermahr I. Presence of headache and headache types in patients with tumors of the sellar region-can surgery solve the problem? Results of a prospective single center study. *Endocrine*. 2017 May;*56*(2):325-335. doi: 10.1007/s12020-017-1266-9. Epub 2017 Feb 27. PMID: 28243973.
- [77] Kaniuka-Jakubowska S, Levy MJ, Pal A, Abeyaratne D, Drake WM, Kyriakakis N, Murray RD, Orme SM, Gohil S, Brooke A, Leese GP, Korbonits M, Wass JA. A study of acromegaly-associated headache with somatostatin analgesia. *Endocr Relat Cancer*. 2023 Feb 16;*30*(3):e220138. doi: 10.1530/ERC-22-0138. PMID: 36633458.
- [78] Suri H, Dougherty C. Clinical Presentation and Management of Headache in Pituitary Tumors. *Curr Pain Headache Rep*. 2018 Jun 15;*22*(8):55. doi: 10.1007/s11916-018-0710-8. PMID: 29904889.
- [79] Paolucci M. et al . The Role of Endothelial Dysfunction in the Pathophysiology and Cerebrovascular Effects of Migraine: A Narrative Review, *JCN* 2021
- [80] Yücel M, Kotan D, Gurol Çiftçi G, Çiftçi IH, Cıkrıklar HI. Serum levels of endocan, claudin-5 and cytokines in migraine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016;*20*:930–936.

- [81]de Villiers S, Bester J, Kell DB, Pretorius E. A possible role of amyloidogenic blood clotting in the evolving haemodynamics of female migraine-with-aura: results from a pilot study. *Front Neurol* 2019;10:1262
- [82]Lei Zhao, Wenhui Zhao, International Headache Genetics Consortium (IHGC), Jin Cao, and Yiheng Tu Causal relationships between migraine and microstructural white matter: a Mendelian randomization study. *J Headache Pain*. 2023; 24(1): 10.
- [83] Katharina Eikermann-Haerter, White Matter Lesions in Migraine *Am J Pathol*. 2021
- [84] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*. 2018 Jan;38(1):1-211. doi: 10.1177/0333102417738202. PMID: 29368949.
- [85] Rosato E, Borghese F, Pisarri S, Salsano F. Laser Doppler perfusion imaging is useful in the study of Raynaud's phenomenon and improves the capillaroscopic diagnosis. *J Rheumatol* 2009;36: 2257–63. 4
- [86] Rosato E, Rossi C, Molinaro I et al. Laser Doppler perfusion imaging in systemic sclerosis impaired response to cold stimulation involves digits and hand dorsum. *Rheumatology* 2011;50:1654–8
- [87]studio CAMERA (Cerebral Abnormalities in Migraine, an Epidemiological Risk Analysis study )
- [88] R Kooijman et al. Expression of type I insulin-like growth factor receptors on human peripheral blood mononuclear cells. *Endocrinology*, Volume 131, Issue 5, 1 November 1992, Pages 2244–2250.
- [89] Wolters TLC, Netea MG, Riksen NP, Hermus ARMM, Netea-Maier RT. Acromegaly, inflammation and cardiovascular disease: a review. *Rev Endocr Metab Disord*. 2020 Dec;21(4):547-568. doi: 10.1007/s11154-020-09560-x.
- [90] Wolters TLC, van der Heijden CDCC, van Leeuwen N, Hijmans-Kersten BTP, Netea MG, Smit JW, Thijssen DHJ, Hermus A, Riksen NP, Netea-Maier R. Persistent inflammation and endothelial dysfunction in patients with treated acromegaly. *Endocr Connect*. 2019 Dec;8(12):1553-1567. doi: 10.1530/EC-19-0430

- [91] D.Costa et al. In acromegalic patients the serum levels of interleukin-33 and Resolvin D1 influence skin perfusion of hands: A pilot study. *MVR*, 2023
- [92] Zhang Y, et al. IL-33 promotes growth and liver metastasis of colorectal cancer in mice by remodeling the tumor microenvironment and inducing angiogenesis. *Mol Carcinog* 2017;56:272–287.
- [93] Shan S, et al. Nasal administration of interleukin-33 induces airways angiogenesis and expression of multiple angiogenic factors in a murine asthma surrogate. *Immunology* 2016;148:83–91.
- [94] Choi YS, et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood* 2009;114:3117–3126.
- [95] Aimo A, et al. The IL-33/ST2 pathway, inflammation and atherosclerosis: Trigger and target? *Int J Cardiol.* 2018 Sep 15;267:188-192. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.05.056. Epub 2018 May 19. PMID: 29793758.
- [96] Yuan Sun et al. Role of the IL-33/ST2 axis in cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis, *Plos one*, Nov 2021
- [97] Yusuke Higashi et al. IGF-1 and cardiovascular disease. *Growth Horm IGF Res.* 2019 Apr;45:6-16. doi: 10.1016/j.ghir.2019.01.002. Epub 2019 Jan 31.
- [97] Rizzoni D. et al Acromegalic Patients Show the Presence of Hypertrophic Remodeling of Subcutaneous Small Resistance Arteries. *Hypertensione*, 2004
- [98] Maison P. et al. Vascular reactivity in acromegalic patients: preliminary evidence for regional endothelial dysfunction and increased sympathetic vasoconstriction. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000 Oct;53(4):445-51. doi: 10.1046/j.1365-2265.2000.01127.x. PMID: 11012569).
- [99] Paisley AN. et al. Small vessel remodeling and impaired endothelial-dependent dilatation in subcutaneous resistance arteries from patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Apr;94(4):1111-7. doi: 10.1210/jc.2008-0948. Epub 2009 Jan 27. PMID: 19174501.
- [100] Trombetta, A. C., et al. (2016). Effects of Longterm Treatment with Bosentan and Iloprost on Nailfold Absolute Capillary Number, Fingertip Blood Perfusion,

and Clinical Status in Systemic Sclerosis. *J. Rheumatol.* 43, 2033–2041. doi: 10.3899/jrheum.160592

[101] Valeria Mercuri, Tullia Villani, Denise Costa, Michela Mordenti, Tania D'Amico, Paolo Palange, Patrizia Gargiulo, "Respiratory Disorders in Acromegalic Patients  
*International Journal of Clinical Medicine*, Vol.10 No.10, 2019

[102] Kermani H, et al (2012) Expression of the growth hormone/insulin-like growth factor axis during Balb/c thymus ontogeny and effects of growth hormone upon ex vivo T cell differentiation. *NeuroImmunoModulation* 19(3):137–147. <https://doi.org/10.1159/000328844>. (Epub 2012 Jan 18)

[103] Wolters TLC, et al. The association between treatment and systemic inflammation in acromegaly. *Growth Horm IGF Res.* 2021 Apr-Jun;57-58:101391. doi: 10.1016/j.ghir.2021.101391. Epub 2021 Apr 30. PMID: 33964727.

[104] Schankin CJ, Reifferscheid AK, Krumbholz M, Linn J, Rachinger W, Langer S, Sostak P, Arzberger T, Kretzschmar H, Straube A. Headache in patients with pituitary adenoma: clinical and paraclinical findings. *Cephalalgia.* 2012 Dec;32(16):1198-207. doi: 10.1177/0333102412462639. Epub 2012 Oct 11. PMID: 23059488.

