

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CARDIO NEFRO TORACICHE

Ciclo 33

Settore Concorsuale: 06/D1 - MALATTIE DELL'APPARATO CARDIOVASCOLARE E MALATTIE DELL'APPARATO RESPIRATORIO

Settore Scientifico Disciplinare: MED/11 - MALATTIE DELL'APPARATO CARDIOVASCOLARE

ALTERAZIONI STRUTTURALI E FUNZIONALI NELLE DIVERSE EZIOLOGIE DI AMILOIDOSI CARDIACA: ANALISI DEI PARAMETRI ECOCARDIOGRAFICI ED EMODINAMICI INVASIVI E LORO RUOLO PROGNOSTICO

Presentata da: Agnese Milandri

Coordinatore Dottorato

Gaetano Domenico Gargiulo

Supervisore

Nazzareno Galie

Esame finale anno 2021

INDICE

INTRODUZIONE	1
BACKGROUND	34
MATERIALI E METODI	35
Disegno dello studio.....	35
Definizioni e criteri diagnostici.....	35
<i>Diagnosi di amiloidosi cardiaca</i>	35
<i>Cardiomiopatia amiloidotica</i>	36
<i>Diagnosi eziologica</i>	36
<i>Definizioni cliniche</i>	37
Metodiche strumentali.....	37
<i>Biopsia endomiocardica ed analisi istologica</i>	37
<i>Analisi genetica</i>	38
<i>Elettrocardiogramma ed ecocardiogramma</i>	38
<i>Dati emodinamici</i>	39
Follow-up	39
Analisi statistica	40
RISULTATI.....	41
DISCUSSIONE	46
CONCLUSIONI.....	50
TABELLE E FIGURE.....	52
BIBLIOGRAFIA	65

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1 - Frammento istologico di biopsia endomiocardica ventricolare destra.	1
Figura 2 - Correlazioni genotipo-fenotipo nell'amiloidosi transtiretino-relata.....	7
Figura 3 - Elettrocardiogramma nella cardiomiopatia amiloidotica.....	12
Figura 4 - Ecocardiogramma nella cardiomiopatia amiloidotica	13
Figura 5 - Risonanza magnetica nella cardiomiopatia amiloidotica.....	16
Figura 6 - Scintigrafia total-body con ^{99m} Tc-DPD	19
Figura 7 - Algoritmo diagnostico per i pazienti con sospetta cardiomiopatia amiloidotica	25
Figura 8 - Strategie terapeutiche nell'amiloidosi AL.	29
Figura 9 - Rappresentazione schematica dei target di trattamento nell'amiloidosi transtiretino-relata.....	31
Figura 10 - Frequenza dei principali dati morfo-funzionali alterati nei pazienti con cardiomiopatia amiloidotica	57
Figura 11 Curve di sopravvivenza nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.....	63

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1 - Classificazione eziologica delle amiloidosi .	2
Tabella 2. Sistemi di stratificazione prognostica validati per l'amiloidosi AL.	27
Tabella 3. Criteri validati per valutare la risposta al trattamento chemioterapico nell'amiloidosi AL.	28
Tabella 4. Caratteristiche cliniche principali nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.	52
Tabella 5. Variabili elettrocardiografiche nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.	53
Tabella 6. Variabili ecocardiografiche nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.	54
Tabella 7. Parametri emodinamici invasivi nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.	56
Tabella 8. Caratteristiche cliniche principali nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.	57
Tabella 9. Variabili elettrocardiografiche nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.	59
Tabella 10. Variabili ecocardiografiche nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.	60
Tabella 11. Parametri emodinamici nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.	62
Tabella 12. Analisi multivariata di regressione di Cox per il rischio di eventi clinici maggiori nella popolazione totale.	64

INTRODUZIONE

Il termine amiloidosi identifica un gruppo di patologie rare causate da deposizione extracellulare di materiale proteinaceo, definito amiloide, in diversi organi e tessuti, con conseguente alterazione della loro architettura strutturale e della loro funzione.^{1,2} Ogni tipo di amiloidosi è caratterizzato dall'accumulo di una specifica proteina che, in seguito ad un errato processo di ripiegamento, assume una struttura super-secondaria a β -foglietto che facilita la formazione di fibrille insolubili e resistenti alla proteolisi³. Nonostante le proteine riscontrate nei depositi di amiloide siano diverse, le fibrille alla base del processo patogenetico hanno caratteristiche strutturali e tintoriali comuni^{3,4}:

- conformazione secondaria “ β -foglietto ripiegato” alla spettroscopia a raggi infrarossi;
- diametro variabile tra 7,5 e 10 nm;
- aspetto eosinofilo, ialino al microscopio ottico alla colorazione con ematossilina-eosina (figura 1A);
- birifrangenza “apple green” dopo colorazione con rosso Congo al microscopio a luce polarizzata (figura 1B).

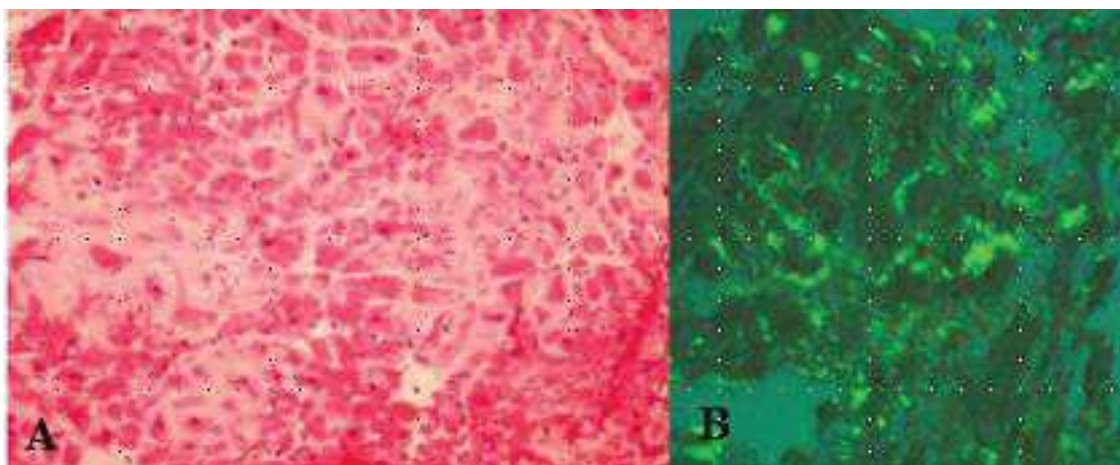


Figura 1 - Frammento istologico di biopsia endomiocardica ventricolare destra.

A Colorazione con ematossilina eosina: evidente la diffusa deposizione in sede interstiziale perimiocitaria della sostanza amiloide (rosa pallido). B Colorazione con rosso Congo osservata al microscopio a luce polarizzata: l'amiloide assume una

colorazione verde (apple green); tale fenomeno rappresenta il “gold standard” per la diagnosi istologica.

Oltre ai fasci proteici ci sono altre componenti comuni a tutti i depositi di amiloide, tra cui glicosamminoglicani, apolipoproteina E e la amiloide sierica P (serum amyloid P, SAP)⁴.

L’attuale nomenclatura delle patologie amiloidotiche, approvata dal “Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis”, si basa sulla natura della proteina che costituisce le fibrille di amiloide (tabella 1)⁵. La proteina fibrillare è sempre indicata come proteina A più un suffisso, quest’ultimo è un’abbreviazione del nome della proteina precursore.

Fibril protein	Precursor protein	Systemic and/or localised	Acquired or hereditary	Target organs
AL	Immunoglobulin light chain	S, L	A, H	All organs, usually except CNS
AH	Immunoglobulin heavy chain	S, L	A	All organs except CNS
AA	(Apo) serum amyloid A	S	A	All organs except CNS
ATTR	Transthyretin, wild type	S	A	Heart mainly in males, lung, ligaments, tenosynovium
Aβ2M	Transthyretin, variants	S	H	PNS, ANS, heart, eye, leptomeninges
	β2-microglobulin, wild type	S	A	Musculoskeletal system
	β2-microglobulin, variants	S	H	ANS
AApoAI	Apolipoprotein A I, variants	S	H	Heart, liver, kidney, PNS, testis, larynx (C terminal variants), skin (C terminal variants)
AApoAII	Apolipoprotein A II, variants	S	H	Kidney
AApoAIV	Apolipoprotein A IV, wild type	S	A	Kidney medulla and systemic
AApoCI	Apolipoprotein C II, variants	S	H	Kidney
AApoCIII	Apolipoprotein C III, variants	S	H	Kidney
AGel	Gelsolin, variants	S	H	Kidney
ALys	Lysozyme, variants	S	H	Kidney
ALECT2	Leukocyte chemotactic factor-2	S	A	Kidney, primarily
AFib	Fibrinogen α, variants	S	H	Kidney, primarily
ACys	Cystatin C, variants	S	H	CNS, PNS, skin
ABri	ABriPP, variants	S	H	CNS
ADan ^b	ADanPP, variants	L	H	CNS
Aβ	Aβ protein precursor, wild type	L	A	CNS
	Aβ protein precursor, variant	L	H	CNS
AαSyn	α-Synuclein	L	A	CNS
ATau	Tau	L	A	CNS
APrP	Prion protein, wild type	L	A	CJD, fatal insomnia
	Prion protein variants	L	H	CJD, GSS syndrome, fatal insomnia
ACal	Prion protein variant (Pro)calcitonin	S	H	PNS
		L	A	C-cell thyroid tumours
AIAPP		S	A	Kidney
	Islet amyloid polypeptide ^c	L	A	Islets of Langerhans, insulinomas
AANF	Atrial natriuretic factor	L	A	Cardiac atria
APro	Prolactin	L	A	Pituitary prolactinomas, aging pituitary
AIns	Insulin	L	A	Iatrogenic, local injection
A ^d SPC ^d	Lung surfactant protein	L	A	Lung
ACor	Corneodesmosin	L	A	Cornified epithelia, hair follicles
AMed	Lactadherin	L	A	Senile aortic, media
AKer	Kerato-epithelin	L	A	Cornea, hereditary
ALac	Lactoferrin	L	A	Cornea
AQOAP	Odontogenic ameloblast-associated protein	L	A	Odontogenic tumours
ASemI	Semenogelin I	L	A	Vesicula seminalis
AEnf	Enfuvirtide	L	A	Iatrogenic
ACatK ^e	Cathepsin K	L	A	Tumour associated
A ^f EFMP1 ^f	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 (EFEMP1)	L	A	Portal veins Aging associated

^aProteins are listed, when possible, according to relationship. Thus, apolipoproteins are grouped together, as are polypeptide hormones.

^bADan is the product of the same gene as ABri.

^cAlso called amylin.

^dNot proven by amino acid sequence analysis.

^eFull amino acid sequence to be established.

Tabella 1 - Classificazione eziologica delle amiloidosi (adattata da Benson MD et al. *Amyloid* 2020)⁵.

Ad oggi, nell'uomo sono state identificate più di 30 proteine in grado di generare amiloide; i depositi di amiloide possono formarsi in presenza di una proteina anormale (ad esempio, amiloidosi ereditarie e amiloidosi acquisita AL), in seguito ad una prolungata abbondanza di una proteina normale (ad esempio amiloidosi sistemica reattiva (AA) ed amiloidosi dialisi-relata β 2-microglobulina) o, per ragioni sconosciute, accompagnarsi ai processi di invecchiamento (ad esempio, amiloidosi correlata alla transtiretina wild-type)⁶.

L'amiloidosi, inoltre, può essere definita "localizzata", se confinata ad un particolare organo o tessuto o "sistemica", quando i depositi di amiloide si verificano in più siti³. Ancora rimane senza spiegazione il tropismo delle varie proteine per alcuni determinati organi; il sito di deposito potrebbe dipendere dal concorso di diversi fattori che favorirebbero la formazione delle fibrille, come un'alta concentrazione locale di proteine, un basso pH, la presenza di fibrille già depositate in sede ed eventuali specifiche interazioni con alcuni recettori³.

AMILOIDOSI CARDIACA

Tra le 30 proteine amiloidogeniche conosciute, capaci di formare fibrille di amiloide in vivo, 5 possono infiltrare il cuore e causare la cardiomiopatia amiloidotica (CA): le catene leggere delle immunoglobuline (causa di amiloidosi AL o amiloidosi primaria), le catene pesanti delle immunoglobuline, la transtiretina, nella sua variante mutata (causa di amiloidosi ereditaria transtiretino-relata (ATTRm)) o 'wild-type' (causa di amiloidosi transtiretino-relata 'wild-type' (ATTRwt)), l'apolipoproteina AI e la proteina "serum amyloid A" (SAA)². Tra queste forme di CA, quelle che più frequentemente vengono riscontrate nella pratica clinica e a cui è dedicata la prossima parte di questa trattazione sono l'amiloidosi AL e l'amiloidosi transtiretino-relata (ATTR), nella forma ereditaria (ATTRm) e nella forma non ereditaria o 'wild-type' (ATTRwt)⁷.

I depositi di amiloide nel cuore possono verificarsi nel miocardio, nei vasi, nel sistema di conduzione e nell'apparato valvolare. Il danno complessivo può essere correlato sia all'infiltrazione tissutale che all'effetto tossico diretto delle fibrille amiloidotiche (in particolare nell'amiloidosi AL)^{3,8}.

AMILOIDOSI AL

L'amiloidosi AL è ad oggi considerata la forma di amiloidosi sistemica più frequente, nonostante rimanga una condizione rara con una prevalenza di 0,3 casi/100.000 persone/anno, senza un'evidente disparità tra i due sessi^{9,10}.

La patogenesi è correlata ad un'anormale produzione, da parte di un clone plasmacellulare, di immunoglobuline monoclonali caratterizzate da instabilità strutturale, che frammentandosi rilasciano in circolo catene leggere libere, lambda o kappa (le forme con componente lambda sono 4 volte più frequenti di quelle kappa). Sebbene tutte le discrasie plasmacellulari, come il mieloma multiplo e la macroglobulinemia di Waldenström (IgM), possano essere complicate da amiloidosi AL, in realtà, la maggior parte dei pazienti con amiloidosi AL non hanno una forma tipica di mieloma, essendo questa presente solo nel 10-15% dei casi. L'80% dei casi è invece associato ad una gammopatia monoclonale che produce una componente monoclonale di piccola entità (inferiore a 3 g/dl, quando dosata nel prelievo ematico), caratteristica che la differenzia dal mieloma multiplo, insieme ad un infiltrato plasmacellulare nel midollo osseo inferiore al 10% e all'assenza di lesioni litiche ossee, ipercalcemia, insufficienza renale ed anemia¹⁰.

Clinicamente l'amiloidosi AL porta ad un interessamento multi-organo con coinvolgimento cardiaco nel 30-50% dei pazienti. In molti di questi pazienti lo scompenso cardiaco è la presentazione tipica e, ad ogni modo, la cardiomiopatia è la causa principale di morbidità e mortalità: nel 50% dei casi il paziente muore per aritmie fatali o scompenso cardiaco avanzato^{10,11}. L'infiltrazione di altri organi può causare sintomi sistemici o organo-specifici (ad esempio: astenia, perdita di peso, insufficienza renale cronica). Le basi del tropismo d'organo della forma AL sono ancora sconosciute. Studi di cloni genici di catene leggere indicano che il repertorio di geni responsabili dell'amiloidosi AL è ristretto; 4 regioni variabili (*IGKV1-16*, *IGLV6-57*, *IGLV2-14*, *IGLV3-1*) sono ritrovate nei 2/3 dei casi, ed è presente un tropismo cardiaco con *IGLV2-14* e *IGLV3-1*, sebbene il meccanismo non sia ancora noto¹².

La diagnosi di amiloidosi AL si basa sull'identificazione della componente monoclonale attraverso iniziali indagini di laboratorio e, in particolare,

l'immunofissazione sierica ed urinaria, associata al dosaggio delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero (kappa e lambda e secondario rapporto kappa/lambda) e alla proteinuria delle 24 ore. E' importante notare che un anormale rapporto kappa/lambda, da solo, non è specifico di amiloidosi AL, poiché più del 5% della popolazione di età superiore ai 65 anni ha una componente monoclonale di incerto significato (MGUS)¹³, che può alterare questo rapporto. Questo può portare ad una diagnosi errata di CA-AL in pazienti anziani che invece hanno un'amiloidosi transtiretino-relata e una MGUS associata (fino al 10% di diagnosi errate, anche nei centri di riferimento). Inoltre, le catene leggere libere sieriche sono filtrate dai glomeruli; pertanto, la presenza di disfunzione renale può portare ad un incremento della loro concentrazione plasmatica. L'insufficienza renale influenza le catene kappa e lambda differently, per cui è stato proposto un intervallo di normalità del rapporto kappa/lambda maggiore nei pazienti con danno renale avanzato¹⁴. Una volta identificata la presenza della componente monoclonale agli esami ematici ed urinari dovrebbe essere eseguita una biopsia del midollo osseo, per identificare la specifica discrasia plasmacellulare causa dell'amiloidosi AL, ed una biopsia del grasso periombelicale, delle ghiandole salivari o di un organo coinvolto dalla patologia (cuore, rene) per la documentazione istologica dei depositi di amiloide¹⁵.

AMILOIDOSI TRANSTIRETINO-RELATA (ATTR)

L'ATTR si verifica secondariamente al deposito di fibrille di transtiretina (TTR), una proteina tetramerică, prevalentemente prodotta dal fegato (responsabile di più del 98% dell'intera produzione) e per la restante parte dai plessi coroidei e dall'epitelio pigmentato della retina, deputata al trasporto di tirosina e retinolo (attraverso il complesso retinolo-proteina legante il retinolo (RBP)), codificata da un piccolo gene (4 esoni) localizzato sul cromosoma 18⁷.

Alla base del processo patogenetico dell'ATTR vi è la dissociazione delle strutture omo-tetrameriche di TTR in monomeri mal ripiegati che si auto-assemblano in oligomeri solubili, protofibrille e infine fibre amiloidi mature insolubili. Nonostante il suo nome, la TTR circolante trasporta piccolissime

quantità di ormoni tiroidei e questa funzione di trasporto non sembra influenzare in modo significativo la propensione all'aggregazione della TTR. Al contrario, la proteina legante il retinolo (RBP) lega e stabilizza la TTR tetramericata e ciò sembra suggerire che basse concentrazioni plasmatiche di RBP possano contribuire alla dissociazione del tetramero¹⁶.

Amiloidosi ereditaria transtiretina-relata (ATTRm)

L'amiloidosi ereditaria transtiretina-relata presenta una trasmissione autosomica dominante con penetranza variabile.

Ad oggi, sono note più di 100 mutazioni del gene della TTR (tra cui la più frequente è la mutazione V30M), tutte puntiformi, la maggior parte delle quali sono amiloidogeniche e si esprimono prevalentemente come polineuropatie, cardiomiopatie, o con fenotipi misti cardiologici-neurologici^{17,18} (figura 2). Infatti, nonostante l'ATTRm in passato sia stata considerata una patologia prevalentemente neurologica, è in realtà ormai noto che essa presenti una grande eterogeneità fenotipica¹⁹. Lo spettro clinico varia ampiamente andando da un interessamento neurologico quasi esclusivo in un contesto chiaramente familiare (condizione clinica che prende il nome di "polineuropatia amiloidotica familiare" [FAP], associata alla mutazione V30M), a casi apparentemente sporadici con una presentazione strettamente cardiologica^{7,20}. Queste differenze possono essere correlate non solo alla mutazione specifica della TTR, ma anche all'area geografica da cui proviene il paziente, al sesso del paziente e del genitore che trasmette la mutazione, al tipo di fibrille presenti nei depositi ("full-length" o tronche) e, nel caso della ATTRm associata alla mutazione V30M, al fatto che gli individui affetti presentino la forma endemica o non endemica della patologia^{18,21}.

Anche i dati epidemiologici sulla prevalenza della ATTRm variano molto in relazione al tipo di mutazione e alle aree geografiche prese in considerazione; ad esempio, in uno studio svedese del 2013 è stata calcolata un'incidenza della patologia pari a 2 nuovi casi per milione di abitanti all'anno²², mentre in Portogallo, dove è noto che la forma di ATTRm da mutazione V30M e fenotipo prevalentemente neurologico sia endemica, l'ATTRm ha un'incidenza stimata in 1/538 individui²³. Infine, la mutazione V122I, che interessa quasi esclusivamente soggetti di discendenza africana

o afro-caraibica e presenta un fenotipo sostanzialmente cardiologico, ha un prevalenza stimata del 3-4%²⁴.

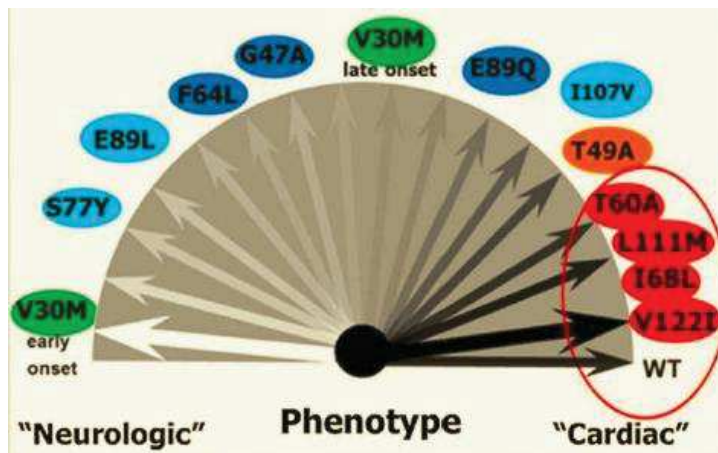


Figura 2 - Correlazioni genotipo-fenotipo nell'amiloidosi TTR-relata. (adattata da Rapezzi *et al*, *Eur Heart J* 2013)¹⁸

Amiloidosi transtiretino-relata 'wild-type' (ATTRwt)

A livello cardiaco, piccoli depositi di fibrille di transtiretina non mutata ('wild-type') strutturalmente instabile sono stati trovati in una percentuale variabile tra il 14 e il 25% delle autopsie di individui anziani²⁵. Quando la transtiretina 'wild-type' si deposita in quantità maggiori, causando manifestazioni cliniche, si parla di amiloidosi transtiretino-relata wild-type (ATTRwt), in passato denominata "amiloidosi sistemica senile" (SSA).

La reale prevalenza dell'ATTRwt nella popolazione generale rimane sconosciuta. Negli ultimi anni, grazie ad una maggiore conoscenza della malattia e ad un maggior ruolo delle metodiche diagnostiche non invasive, si sta assistendo ad un significativo incremento del numero di pazienti che ricevono questa diagnosi, tale da presupporre che l'ATTRwt possa essere la forma di amiloidosi cardiaca più frequente. In coorti recenti di pazienti con scompenso cardiaco a frazione di eiezione conservata la prevalenza stimata della CA-ATTRwt è pari al 13%²⁶, mentre in casistiche di pazienti con stenosi aortica degenerativa la prevalenza di un'associata cardiomiopatia da ATTRwt varia dal 4 a 16%²⁷⁻³⁰.

L'ATTRwt colpisce prevalentemente soggetti di sesso maschile dalla sesta decade in avanti e nel sesso femminile presenta uno sviluppo dei sintomi più tardivo³¹; sebbene la causa di queste differenze tra i due sessi non sia stata ad oggi chiarita, è stato suggerito un possibile ruolo patogenetico correlato a fattori ormonali e post-trascrizionali³². Analogamente, non è stato definito il meccanismo patogenetico della malattia; infatti, non è chiaro perché in alcuni soggetti la forma 'wild-type' della proteina diventi instabile dal punto di vista cinetico, andando così incontro alla dissociazione dei tetrameri e alla successiva formazione e al deposito delle fibrille insolubili.

Nella ATTRwt il fenotipo è caratterizzato da un interessamento cardiaco quasi esclusivo; le uniche manifestazioni non cardiologiche riscontrabili, che possono precedere di circa 10 anni le manifestazioni cardiache, sono in molti casi la sindrome del tunnel carpale (STC), spesso bilaterale, secondaria al deposito di amiloide nel legamento carpale trasverso^{33,34} o altre patologie osteo-articolari sempre dovute al deposito di amiloide nei legamenti, quali la stenosi del canale lombare, la rottura spontanea del muscolo del bicipite o l'anamnesi di intervento di sostituzione protesica di anca e ginocchio^{35,36}. Sebbene la neuropatia periferica e/o autonoma sia riscontrata raramente nell'ATTRwt, in alcune casistiche la neuropatia può essere osservata fino al 10% dei pazienti, anche se rimane tuttora ignoto se essa dipenda dall'amiloidosi o da altre eziologie concomitanti.

Il fenotipo cardiologico prevalente, descritto nella ATTRwt, è quello di una cardiomiopatia con ipertrofia concentrica del ventricolo sinistro con frazione di eiezione conservata che porta ad evidenti segni e sintomi di scompenso cardiaco^{26,31}. Sebbene studi iniziali suggerissero una sopravvivenza soddisfacente (> 5 anni), dati più recenti riportano risultati peggiori, con una sopravvivenza mediana dalla prima valutazione medica pari a circa 3,5 anni^{31,37}. Queste discrepanze sono in parte legate alle difficoltà nel definire l'esordio della malattia. I biomarcatori cardiaci possono essere utilizzati per stratificare il rischio di pazienti con CA-ATTRwt. Il sistema di stadiazione della 'Mayo Clinic', validato nel 2016, utilizza valori soglia di troponina T e NTproBNP (rispettivamente > 0,05 ng / ml e > 3000 pg / ml), definendo tre stadi di gravità (stadio I - entrambi i valori di biomarcatori sotto la soglia,

stadio II - uno solo sopra e stadio III - entrambi sopra) con sopravvivenza mediana rispettivamente di 66, 42 e 20 mesi³⁸. Il sistema di stadiazione per l'ATTR del 'National Amyloidosis Center' nel Regno Unito, che è stato validato nel 2017 su coorti di pazienti sia con CA-ATTRwt che con CA-ATTRm (prevalentemente con genotipo V122I) ha, invece, utilizzato NT-proBNP (stessa soglia di > 3000 pg / ml) e velocità di filtrazione glomerulare (VFG < 45 ml/ min), riportando una sopravvivenza mediana per i pazienti in stadio II (un solo parametro alterato: NT-proBNP > 3000 pg/ml) di 49 mesi in caso di ATTRwt e 29 mesi nell' ATTRm da mutazione V122I (nota per avere una prognosi peggiore rispetto ad altre forme di ATTRm, anche esclusivamente cardiologiche)³⁹. In entrambi gli studi parametri ecocardiografici, quali lo spessore della parete ventricolare sinistra, la massa ventricolare sinistra e la funzione diastolica, non sono risultati essere predittori indipendenti di sopravvivenza.

DIAGNOSI

La cardiomiopatia amiloidotica è spesso diagnosticata con difficoltà ed il ritardo nella diagnosi porta ad importanti conseguenze per il paziente. In un registro di più di 500 pazienti con amiloidosi AL (37% dei quali con interessamento cardiaco) la media tra l'inizio dei sintomi e la diagnosi era pari a 2 anni e il 31% dei pazienti affermava di aver visto almeno 5 specialisti prima di ricevere la diagnosi. I cardiologi venivano consultati più spesso di ematologi, oncologi o nefrologi, ma erano responsabili della diagnosi solo nel 18,7% dei casi⁴⁰. Gli stessi dati per la CA-ATTR, anche se in casistiche meno numerose, rivelano che meno della metà dei pazienti ricevono una diagnosi entro 6 mesi e la ricevono principalmente da parte di cardiologi.

Dal punto di vista strumentale, in generale, la CA si presenta come una cardiomiopatia a fenotipo ipertrofico con morfologia simmetrica prevalente, solitamente associata ad una frazione di eiezione conservata e a vari gradi possibili di disfunzione diastolica. L'espressione clinica della patologia è dominata da un quadro di scompenso cardiaco, oltre che da problematiche aritmiche quali fibrillazione atriale o blocchi atrio-ventricolari. La diagnosi

di CA richiede un alto sospetto clinico. In passato, la presenza di coinvolgimento multiorgano è stata sopravvalutata e la diagnosi veniva presa in considerazione solo in presenza di segni extra-cardiaci eclatanti come la macroglossia e la porpora periorbitaria che, anche se specifici, sono presenti solo in una minoranza di casi di AL ed assenti nell'ATTR. Per quanto riguarda l'ATTR ereditaria, una trappola frequente è dovuta al fatto che raramente i pazienti riferiscono spontaneamente una storia familiare di cardiomiopatia, poiché questa forma ha una presentazione tardiva, una penetranza incompleta ed un fenotipo molto variabile. Ad ogni modo, una valutazione clinica attenta può offrire diverse “red flags” che possono orientare verso una diagnosi finale corretta in un paziente che si presenta con una cardiomiopatia con fenotipo ipertrofico. Alcuni indizi per l'ATTR includono una storia di sindrome del tunnel carpale (soprattutto se bilaterale in un soggetto di sesso maschile), una rottura spontanea del tendine del bicipite e una diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica dopo la sesta decade di vita. La presenza di una neuropatia periferica o autonoma inspiegabile suggerisce la possibilità di amiloidosi ATTRm, ma può verificarsi anche nell'amiloidosi AL. Un altro indizio clinico, in un soggetto con ipertensione arteriosa nota, è la comparsa di progressiva necessità di riduzione del dosaggio della terapia antipertensiva fino ad interruzione per ipotensione arteriosa persistente. Tale fenomeno, che si verifica secondariamente ad una riduzione della portata cardiaca e all'associata neuropatia autonoma, è maggiormente frequente nei pazienti con ATTRm e in quelli con amiloidosi AL, in cui spesso si riscontrano anche quadri importanti di ipotensione ortostatica sintomatica. Inoltre, i pazienti con amiloidosi AL riportano spesso una sintomatologia sistemica secondaria all'interessamento multiorgano con sintomi poco specifici quali astenia marcata, inappetenza, nausea e calo ponderale. Dal punto di vista laboratoristico, sebbene non specifici, valori persistentemente elevati di NTproBNP, spesso sproporzionati rispetto al grado di scompenso cardiaco rilevato clinicamente, possono essere utili per far nascere il sospetto di CA in un paziente con scompenso a frazione di eiezione conservata ed ipertrofia ventricolare sinistra.

Il sospetto clinico, supportato da metodiche strumentali di primo livello, quali elettrocardiogramma (ECG) ed ecocardiogramma, rimane la base su cui costruire l'iter diagnostico più appropriato, volto non solo a confermare la presenza di amiloide nel cuore (o in altre sedi in caso di amiloidosi sistemica), ma anche a raggiungere la diagnosi eziologica, identificando la proteina fibrillare responsabile dei depositi. Infatti, la diagnosi eziologica è indispensabile per impostare il corretto trattamento, che è radicalmente diverso tra le varie forme.

ELETTROCARDIOGRAMMA

I rilievi elettrocardiografici tipici della CA riflettono le alterazioni strutturali del miocardio e, in particolare del tessuto di conduzione, secondarie al deposito di amiloide. Il riscontro elettrocardiografico classicamente associato alla CA è la presenza di bassi potenziali del QRS, dato che discorda con l'aumento degli spessori parietali documentato alle metodiche di imaging. In realtà, nelle casistiche contemporanee, la prevalenza dei bassi potenziali varia in base all'eziologia, oscillando dal 60% nelle forme AL al 20% nelle forme TTR-relate, risultando essere generalmente un dato poco sensibile⁴¹. Pertanto, l'assenza di bassi potenziali non preclude la diagnosi di CA, specialmente nei pazienti con l'ATTRwt, in cui, al contrario, nel 30% dei casi, sono presenti segni elettrocardiografici di ipertrofia ventricolare sinistra o blocco di branca sinistra. Formule diagnostiche che incorporano i voltaggi ECG con lo spessore parietale (determinato all'ecocardiogramma), al fine di calcolare il rapporto voltaggio/massa, hanno mostrato una sensibilità e specificità maggiore rispetto ai criteri di voltaggio presi singolarmente⁴². Altre comuni riscontri elettrocardiografici della CA includono pattern 'pseudo-infartuali' (che in alcune casistiche sono presenti in percentuali maggiori rispetto ai bassi potenziali (fino al 70% dei pazienti)), emblocco anteriore sinistro, blocchi di branca, alterazioni della ripolarizzazione aspecifiche o di tipo ischemico e disturbi del ritmo quali fibrillazione e flutter atriale o bradiaritmie che richiedono frequentemente l'impianto di pace-maker definitivi⁴¹ (figura 3).

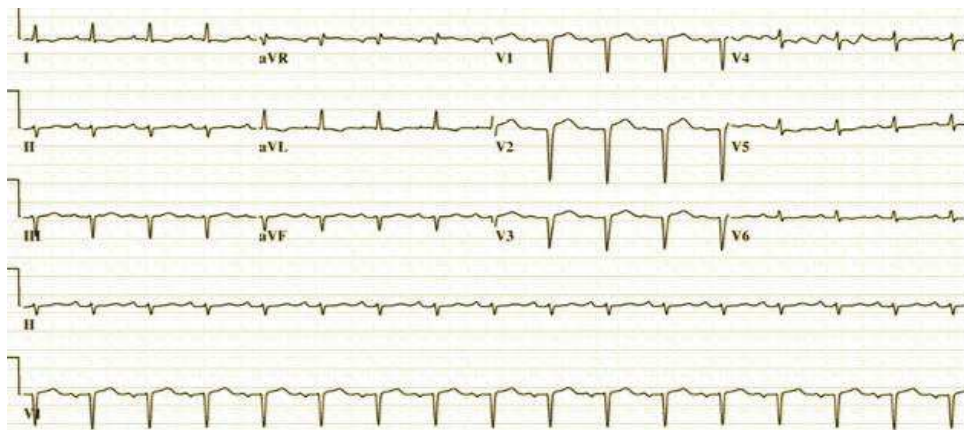


Figura 3 - ECG tipico nell'amiloidosi cardiaca: ritmo sinusale, bassi voltaggi periferici del QRS, deviazione assiale sinistra e pattern pseudo-infartuali.

ECOCARDIOGRAMMA

Dal punto di vista ecocardiografico la CA si presenta come una cardiomiopatia a fenotipo ipertrofico, spesso diagnostica erroneamente come cardiomiopatia ipertrofica sarcomerica¹¹. Sebbene una lettura iniziale dell'ecocardiogramma evidenzi l'ipertrofia ventricolare, nella maggior parte dei casi simmetrica (spessore del setto interventricolare > 12 mm con rapporto setto interventricolare/parete posteriore < 1.5), un'analisi più accurata può portare alla luce alcuni segni della malattia infiltrativa. Una lista parziale di queste "red flags" include: ispessimento delle valvole atrio-ventricolari, ispessimento del setto interatriale, ispessimento della parete libera del ventricolo destro, versamento pericardico di lieve entità e anormale riflettività miocardica ("granular sparkling")^{7,11} (figura 4 A-B-C).

Nonostante la CA sia considerata l'archetipo della disfunzione diastolica ventricolare sinistra⁴³, una fisiopatologia restrittiva conclamata è poco comune e comunque appannaggio delle forme avanzate della malattia; pertanto, all'ecocardiogramma un pattern trans-mitralico di riempimento ventricolare restrittivo non è necessariamente presente e non è indispensabile per la diagnosi (figura 4 D). La funzione sistolica ventricolare sinistra è raramente normale nella CA, nonostante una normale o solo lievemente ridotta frazione d'eiezione del ventricolo sinistro, che permette di annoverare la CA tra le cause di scompenso cardiaco a frazione d'eiezione

preservata^{26,44}. Infatti, le velocità di contrazione miocardica, valutate al Doppler Tissutale, così come gli indici di deformazione (‘strain’), possono essere ridotti già nelle fasi iniziali della malattia (figura 4 E-F). In particolare, la CA altera i valori di ‘strain’ molto più che altre cardiomiopatie ed è caratterizzata da uno ‘strain longitudinale’ con un gradiente tra base ed apice ventricolare. Questo può apprezzarsi rapidamente nelle mappe polari parametriche (“bull’s eye”), che mostrano un risparmio relativo dello strain longitudinale a livello dell’apice (valori normali o lievemente alterati, rispetto alle altre zone del ventricolo, fenomeno denominato “apical sparing”)^{42,45}(figura 4 F). Analogamente, un nuovo indice ecocardiografico, la frazione di contrazione miocardica (“myocardial contraction fraction” - MCF), che è il rapporto tra la gittata sistolica e il volume ventricolare, è frequentemente anormale nei pazienti con cardiomiopatia amiloidotica, nonostante una frazione d’iezione conservata⁴⁶.

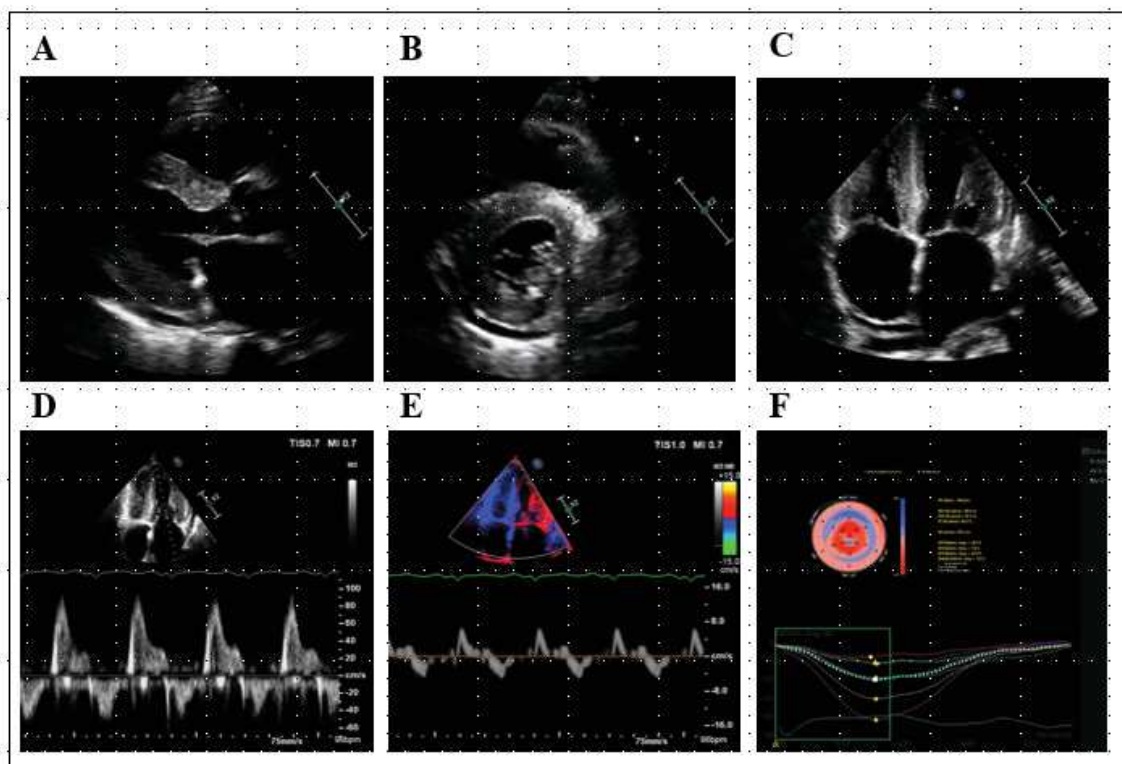


Figura 4 - Immagini di tipiche alterazioni ecocardiografiche nella amiloidosi cardiaca. **A e B.** Proiezione parasternale asse lungo e parasternale asse corto (ecocardiogramma transtoracico 2D) che mostrano ipertrofia ventricolare sinistra concentrica, miocardio iper-riflettente, valvola mitrale ispessita e minimo versamento pericardico. **C.** Proiezione apicale 4 camere (ecocardiogramma transtoracico 2D) che mostra ipertrofia concentrica ventricolare (aumento dello spessore anche del ventricolo destro), dilatazione biatriale,

versamento pericardico. **D.** Doppler pulsato dell'inflow della valvola mitrale con documentazione di pattern restrittivo. **E.** Doppler pulsato tissutale della parete laterale del ventricolo sinistro (a livello dell'anulus mitralico): evidente la severa riduzione sia della velocità tissutale sistolica (onda S < 6 cm/s) che diastolica (onda E < 8 cm/s). **F.** Global longitudinal strain (GLS): alla mappa polare parametrica evidenza di "apical sparing" (zone centrali, corrispondenti alle zone apicali, con colorazione rossa, ovvero valori normali di deformazione).

RISONANZA MAGNETICA

Nelle ultime decadi la risonanza magnetica (RM) cardiaca è emersa come metodica di imaging capace di fornire informazioni dettagliate sulla presenza, localizzazione e distribuzione dell'ipertrofia. In realtà il vero ruolo della RM nella diagnosi di CA, oltre a quello di fornire informazioni strutturali, peraltro simili a quelle derivate dall'esame ecocardiografico, è quello di caratterizzare il tessuto miocardico grazie all'utilizzo di mezzi di contrasto a base di gadolinio e alle nuove metodiche di T1 mapping e calcolo del volume extracellulare miocardico ('extracellular volume', ECV).

Il gadolinio è un'agente puramente extracellulare che non entra nei cardiomiociti intatti, pertanto, le sequenze dopo contrasto, che evidenziano il deposito di gadolinio ("late gadolinium enhancement", LGE), sono generalmente utilizzate per individuare l'aumento dello spazio interstiziale, anche detto volume extracellulare miocardico (ECV). Nella CA l'interstizio è espanso secondariamente al deposito di amiloide e questo può essere documentato alla RM con la presenza di LGE con pattern di localizzazione altamente variabili: subendocardico, medioparietale o transmurale, solitamente con distribuzione non coronarica, localizzata o "patchy". Questi reperti, inoltre, sono associati ad una peculiare cinetica del gadolinio nei pazienti con amiloidosi⁴⁷. Infatti, il miocardio infiltrato dall'amiloide ha un forte avidità per il gadolinio, tale per cui, ad un breve tempo d'inversione gran parte del miocardio raggiunge il "null point" prima del sangue all'interno della cavità ventricolare, diventando perciò nero prima del sangue. Il "T1 mapping" è una recente tecnica di risonanza magnetica in cui viene misurato un segnale quantitativo proveniente dal miocardio prima (T1 nativo) e dopo la somministrazione di contrasto. Ogni pixel nell'immagine è codificato con un colore, che riflette il valore assoluto di T1. Il T1 mapping nativo miocardico misura il segnale intrinseco del miocardio (proveniente sia dallo spazio intracellulare sia extracellulare); le diverse patologie

modificano questo segnale. Un incremento di T1 nativo si riscontra sostanzialmente nella CA, nell'edema ed in parte nella fibrosi; al contrario un T1 ridotto è infrequente, verificandosi solamente nel sovraccarico marziale e nelle infiltrazioni adipose come nella malattia di Fabry (figura 5). T1 è un marker precoce di CA, essendo elevato prima dell'insorgenza di ipertrofia ventricolare, della presenza di LGE o dell'elevazione dei biomarkers⁴⁸. L'utilizzo di mezzi di contrasto con gadolinio aggiunge ulteriori informazioni nella caratterizzazione tissutale con il T1-mapping. Il T1 dopo contrasto può essere ridotto nelle malattie cardiache, suggerendo un aumento dello spazio extracellulare (ECV). L'ECV può anche essere calcolato, utilizzando il rapporto tra i cambiamenti di segnale nel sangue e nel miocardio dopo la somministrazione di contrasto (valutati con il T1 mapping pre e post-contrasto) e il volume di distribuzione del contrasto nel sangue (per quest'ultimo parametro si rende necessario il valore dell'ematocrito, contestuale o ravvicinato all'esecuzione della RM). L'aumento dell'interstizio nella CA si riflette in un importante aumento dell'ECV calcolato (i valori di ECV possono arrivare a 50-55% nella CA rispetto al 20-25 % dei soggetti sani), che in questa patologia raggiunge valori più elevati rispetto a qualsiasi altra cardiopatia con fenotipo ipertrofico o con diffusa sostituzione fibrosa (es. stenosi aortica, cardiomiopatia ipertrofica, cardiopatia ipertensiva, cardiopatia ischemica). L'ECV, come il T1 mapping nativo, si altera precocemente nella CA, prima ancora del LGE e di altri segni strumentali convenzionali⁴⁹. Oltre alla rilevante accuratezza diagnostica di LGE, T1 mapping ed ECV, iniziano ad emergere dati sul possibile ruolo prognostico di questi parametri nella CA⁵⁰. In aggiunta al T1 mapping e all'ECV, ancor più recentemente, il T2 mapping è stato proposto come ulteriore strumento diagnostico nella CA e studi preliminari mostrano un significativo incremento di T2 nella CA-AL rispetto alla CA-ATTR, suggerendo la presenza di una maggiore quota di edema nell'amiloidosi AL⁵¹.

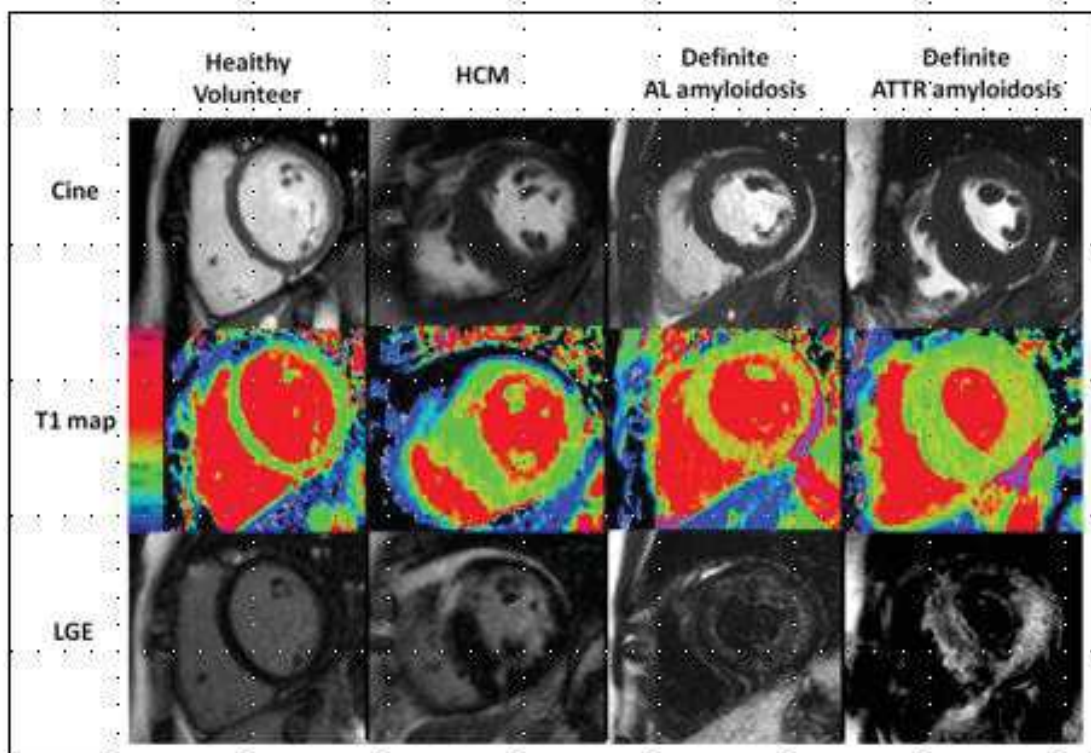


Figura 5 - Immagini telediastoliche di risonanza magnetica cardiaca (in alto); immagini di T1 nativo (al centro) e LGE (in basso).

Da destra a sinistra: volontario sano, cardiomiopatia ipertrofica (CMPI), amiloidosi AL e amiloidosi ATTR. Il T1 mapping nativo mostra un significativo aumento (il miocardio è più rosso) nei pazienti con amiloidosi, sia AL che ATTR, rispetto sia ai soggetti normali che ai pazienti con CMPI. (adattata da *Fontana et al. Heart Fail Rev. 2015*)⁴⁷.

METODICHE DI MEDICINA NUCLEARE: SCINTIGRAFIA OSSEA TOTAL-BODY E PET

I derivati del ^{99m}Tc fosfato (pirofosfato (PYP), idrossimetilene disfosfonato (HMDP), 3,3 acido difosfono-1,2-propanodicarbossilico (DPD)) sono i traccianti più utilizzati nella pratica clinica nella diagnosi di amiloidosi cardiaca, in particolare per la loro utilità nella diagnosi eziologica della CA⁵². Sono stati inizialmente sviluppati come traccianti ossei e per questo impiegati ancora oggi per problematiche ortopediche (valutazione di protesi articolari), reumatologiche ed oncologiche (studio di secondarismi ossei in patologie neoplastiche quali carcinoma della mammella ed adenocarcinoma prostatico); successivamente, fin dagli anni 80, è stata documentata la loro affinità per i depositi di amiloide nel cuore. Tra questi traccianti, inizialmente il più studiato è stato il ^{99m}Tc-DPD, attualmente utilizzato solamente in

Europa, poiché non approvato dalla “Food and Drug Administration” per uso clinico negli Stati Uniti, dove viene invece impiegato il ^{99m}Tc -PYP. Ad ogni modo, nel complesso i dati mostrano che l’amiloidosi TTR-relata, sia mutata che wild-type, è particolarmente avida di tutti i traccianti ossei, mentre la captazione nell’amiloidosi AL è perlopiù assente o solo minima.

La spiegazione di questo comportamento differente tra le diverse forme non è nota, ma è stato ipotizzato che il legame preferenziale nella ATTR sia secondario ad un maggior contenuto di calcio nei depositi di transtiretina⁵³. Inoltre, anche il tipo di mutazione e il risultato della proteolisi delle fibrille (presenza di fibrille “full-length” o, viceversa, “full-length” associate a frammenti C-terminali dell’ ATTR) modulano il legame tra depositi di amiloide e traccianti ossei⁵⁴.

Oggi, la captazione cardiaca alla scintigrafia con traccianti ossei valutata nelle immagini tardive (dopo 3 ore dall’iniezione del radiocomposto) viene solitamente classificata secondo uno ‘score’ visivo che mette in relazione la captazione cardiaca con quella ossea, identificando 4 gradi: captazione cardiaca assente e normale captazione ossea (score 0), lieve captazione cardiaca, inferiore a quella ossea (score 1), moderata captazione cardiaca accompagnata da attenuata captazione ossea (score 2), intensa captazione cardiaca con tenue/assente captazione ossea (score 3)⁵⁵ (figura 6). La valutazione quantitativa può essere eseguita anche calcolando il rapporto tra captazione cardiaca e captazione a livello dell’emitorace controlaterale (‘heart to controlateral’, H/CL).

In pazienti selezionati, l’accuratezza diagnostica della scintigrafia con traccianti ossei per la CA- ATTR⁵⁶ è così elevata che questa metodica è oggi considerata lo standard diagnostico per questa forma (a tal proposito, si rimanda al paragrafo sulla ‘diagnosi eziologica’)⁵⁷(figura 7). Esistono comunque alcune eccezioni; è il caso dei pazienti con CA-ATTRm secondaria a mutazione P64L della TTR, in cui è stata recentemente documentata una sensibilità della scintigrafia con traccianti ossei molto bassa (pari al 10,5%)⁵⁸.

I traccianti ossei sembrano essere utili anche nell’identificazione precoce della CA-ATTR; è stata, infatti, dimostrata una captazione cardiaca in soggetti portatori di mutazioni della TTR che non presentavano ancora segni

di interessamento cardiaco con altre metodiche strumentali (in particolare ECG ed ecocardiogramma)⁵⁹. Il loro ruolo nell'identificare il carico di amiloide nel cuore (“amyloid burden”) e nel predire la prognosi dei pazienti con CA- ATTR è oggetto di numerosi studi con dati ad oggi parzialmente discordanti^{60,61}.

Recentemente, diversi studi pilota hanno mostrato come l'imaging con PET (Positron Emission Tomography) possa essere uno strumento efficace sia nella diagnosi di CA, sia nella differenziazione tra forme ATTR e AL^{62,63}. Sebbene indagini PET con fluorodesossiglucosio (FDG) abbiano documentato elevate captazioni del radiotracciante in diversi organi in pazienti con amiloidosi AL, la sensibilità e la specificità di tale captazione è complessivamente bassa, poiché è difficile discriminare tra una captazione fisiologica ed una patologica. Studi con l'utilizzo dei derivati del composto B di Pittsburgh (11C-PiB, radiotracciante di nuova generazione utilizzato per la ricerca di beta-amiloide nella malattia di Alzheimer), quali 18F-florbetapir, 18F-florbetaben e 18F-flutemetamol, hanno rilevato un maggiore 'uptake' cardiaco di tali traccianti nei pazienti con CA rispetto a soggetti non affetti⁶³. Una recente meta-analisi di sei studi con 98 pazienti sottoposti ad indagini PET con derivati del 11C-PiB ha dimostrato una sensibilità del 95% e una specificità del 98% di tale metodiche nella diagnosi di CA⁶⁴. Inoltre, *Rosengren et al.* hanno documentato che la PET con 11C-PiB ha una accuratezza diagnostica del 100% per l'amiloidosi AL, significativamente maggiore rispetto alla popolazione con ATTR⁶³.

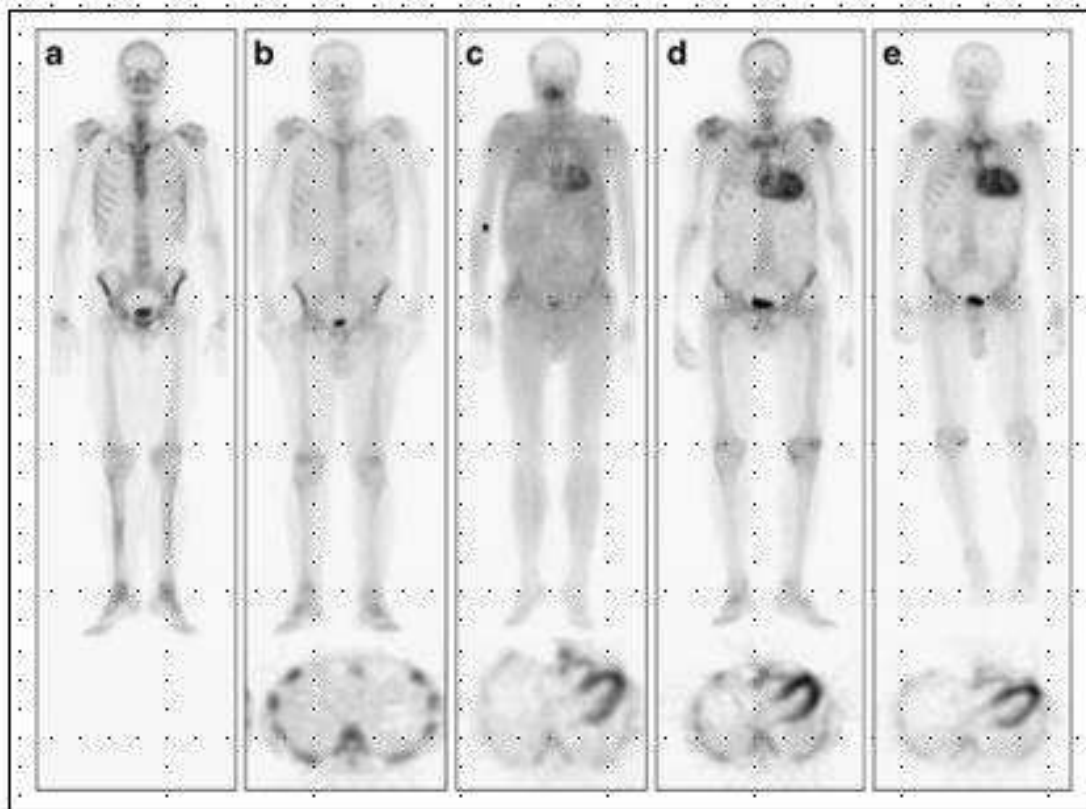


Figura 6 - Esempi che illustrano lo spettro di captazione di ^{99m}Tc -DPD tra i pazienti con amiloidosi cardiaca.

In alto le immagini anteriori total-body, *in basso* le immagini tomografiche (SPECT) a livello cardiaco. **A.** soggetto sano, senza uptake cardiaco visibile. **B.** Paziente con CA-AL senza uptake miocardico visibile (score 0), lieve up-take dei tessuti molli. **C.** Paziente con CA-AL con uptake miocardico moderato e lieve up-take dei tessuti molli. **D e F.** Pazienti con CA-ATTR (paziente in “d” affetto da ATTRm e paziente in “f” affetto da ATTRwt), entrambi con un forte up-take miocardico del radiotracciante (score 2 in “D” e score 3 in “F”). (adattata da *Rapezzi et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2011*)⁶⁵.

ESAMI DI LABORATORIO

La diagnosi definitiva di CA-ATTR non si basa su biomarcatori specifici, ma diversi parametri sono attualmente in fase di valutazione per aiutare nell'identificazione della malattia e per monitorare la risposta ai nuovi trattamenti farmacologici; tra questi sono inclusi la concentrazione plasmatica di TTR e quella della proteina legante il retinolo (retinol binding protein-4 (RBP4), ligando endogeno che stabilizza il tetramero di TTR)⁶⁶.

I livelli sierici di TTR tendono ad essere inferiori al normale nei soggetti con mutazioni patogene e nei pazienti con ATTRwt. In uno studio recente, RBP4 si è dimostrato essere un utile strumento per individuare pazienti con

ATTRm da mutazione V122I negli afroamericani anziani con scompenso cardiaco, specialmente quando integrato in un modello predittivo multiparametrico⁶⁷.

Altri due biomarcatori per l'ATTR, tuttora in fase di valutazione, sono la misurazione della stabilità della cinetica della TTR (che si effettua misurando il tasso di scambio di subunità con il tetramero della TTR) e l'utilizzo di sonde peptidiche che quantificano i livelli di oligomeri mal-ripiegati della TTR.

Nella forma AL l'immunofissazione sierica ed urinaria ed il dosaggio delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero sono esami necessari per rilevare l'attività del clone plasmacellulare e la combinazione di questi tre test ha una sensibilità del 99% nell'identificare un clone plasmacellulare che potrebbe essere causa di amiloidosi AL.

Infatti, è molto raro (<1%) che, in presenza di amiloidosi AL, l'immunofissazione e i livelli di catene leggere siano normali.

I valori plasmatici di peptidi natriuretici (BNP e NTproBNP) tendono ad essere particolarmente elevati nella CA, in particolare nella forma AL, spesso più di quanto ci si aspetterebbe dal quadro emodinamico. Ciò è probabilmente dovuto all'effetto tossico diretto mediato dalle proteine amiloidogeniche sulle cellule miocardiche; in particolare le catene leggere circolanti esercitano questo effetto tossico modulando la p38 MAP-chinasi, che può promuovere direttamente l'espressione di NTproBNP⁸.

Lo stesso meccanismo provoca spesso un'elevazione dei livelli di troponina, potendo portare alla diagnosi errata di sindrome coronarica acuta in pazienti con CA che vengono ricoverati per scompenso cardiaco.

ISTOLOGIA

Sebbene fino ad alcuni anni fa l'analisi istologica per la ricerca dei depositi di amiloide e per la tipizzazione del tipo di fibrille fosse considerato il 'gold-standard' per la diagnosi di amiloidosi in tutti i pazienti, tale ruolo è stato recentemente ridimensionato in seguito all'identificazione di metodiche non invasive in grado non solo di diagnosticare l'amiloidosi cardiaca, ma anche di discriminare tra la forma AL ed ATTR.

Dal punto di vista istologico, la ricerca dei depositi di amiloide è effettuata con la colorazione specifica Rosso Congo del materiale biptico tissutale. Nell'interpretazione dei risultati della colorazione Rosso Congo bisogna tenere presente che l'intensità della birifrangenza "apple green" è parzialmente determinata dalla composizione delle fibrille di amiloide (fibrille miste con TTR full-length e TTR frammentata sono state associate ad una colorazione più debole)⁶⁸. Nonostante l'amiloidosi sia una malattia sistemica, non tutti i tessuti hanno la stessa probabilità di mostrare l'infiltrazione amiloidotica all'esame istologico. L'accuratezza diagnostica della biopsia extra-cardiaca dipende sia dal tipo di amiloidosi sia dal tessuto esaminato. In generale, l'accuratezza della biopsia extra-cardiaca (grasso peri-ombelicale (GPO), gengive, cute, ghiandole salivari o tratto gastro-intestinale) è più alta nella AL rispetto alla ATTRm e comunque sempre molto bassa nella ATTRwt, in cui spesso il cuore è l'unico organo infiltrato. Nella CA-AL la sensibilità della biopsia del GPO è del 70% ed è strettamente associata alla quota di amiloide presente nell'intero organismo⁶⁹. In una casistica di 131 pazienti con CA-ATTR e una biopsia endomiocardica positiva la biopsia del GPO era positiva nel 67% dei pazienti con ATTRm e solo nel 14% di quelli con ATTRwt⁷⁰. Pertanto, nonostante una biopsia del grasso peri-ombelicale sia da preferire come sito iniziale, poiché semplice da effettuare e con basso rischio di complicanze, un risultato negativo non è sufficiente per escludere la diagnosi di amiloidosi ed andrebbe considerata la successiva esecuzione di una biopsia endomiocardica.

L'obiettivo finale della biopsia, oltre alla documentazione dei depositi di amiloide, è quello di fornire un'accurata tipizzazione delle fibrille di amiloide. Oggigiorno, per tale scopo, l'immunoistochimica con sieri anticorpali diretti verso le principali proteine amiloidogeniche rimane la metodica più diffusa nella pratica clinica, poiché è disponibile nella maggior parte dei laboratori, è riproducibile e relativamente a basso costo. Essa, però, è spesso gravata da bassa specificità e sensibilità, con valori variabili nelle diverse casistiche, secondariamente a molteplici motivi. In particolare, risultati falsi negativi, in cui avviene una ridotta o assente colorazione dei campioni biptici, possono verificarsi per perdita di epitopi nella proteina amiloidogenica in presenza di mutazione genetica (es. nella ATTRm)

oppure perché gli anticorpi utilizzati in questa metodica, prodotti contro le proteine native, possono essere inefficaci nel rilevare le proteine mal ripiegate dell'amiloide; inoltre, i sieri diretti contro le catene leggere delle immunoglobuline solitamente si legano alla regione costante di queste, non rilevando così eventuali immunoglobuline tronche costituite dalle sole regioni variabili. Infine, risultati “falsi positivi” e possibile coesistenza di positività per più di un anti-siero (tipicamente quello per la transtiretina e quelli per le catene leggere kappa e lambda delle immunoglobuline), sono spesso descritti e considerati secondari al fenomeno della “contaminazione” dei campioni, dovuto all'intrappolamento di abbondanti proteine sieriche normali nei tessuti durante il processo di fissazione in formalina, fenomeno che causa una colorazione di fondo non specifica⁷¹. Questo dato sottolinea, ancora una volta, il grande rischio di effettuare un'errata classificazione nei pazienti con una gammopatia monoclonale ad incerto significato (MGUS) ed una positività multipla all'immunoistochimica.

Per ovviare alle problematiche descritte, da alcuni anni si stanno validando metodiche di spettrometria di massa per ricercare le proteine amiloidogeniche nei tessuti⁷². Tale metodica, inizialmente testata alla Mayo Clinic, che rimane ad oggi uno dei centri più esperti nel settore, richiede comunque l'identificazione dei depositi di amiloide nei campioni biotici fissati in formalina ed inclusi in paraffina, da questi vengono poi estratte le proteine tissutali che dovranno essere analizzate con lo spettrometro di massa (in alcuni centri l'estrazione delle proteine viene eseguita sui singoli frammenti di amiloide ottenuti con la tecnica di microdissezione del tessuto). Infatti, la spettrometria di massa misura la massa di proteine o peptidi ionizzati (registrata come rapporto massa/carica (m/z)) ed è basata sul concetto che tutti gli aminoacidi hanno una massa propria e, pertanto, ciascuna combinazione di aminoacidi sarà correlata con una specifica massa. In realtà, poiché molte proteine possono avere la stessa massa totale, nella pratica clinica, prima dell'esecuzione della spettrometria di massa, le proteine vengono clivate in peptidi (con tripsina) e le identità proteiche vengono dedotte dai peptidi identificati. In particolare, i rapporti m/z dei peptidi vengono misurati dallo spettrometro generando una “impronta digitale peptidica” che viene poi associata, tramite algoritmi, ad un database

di riferimento, desumendo così la proteina costituita da quegli specifici peptidi⁷³.

DIAGNOSI EZIOLOGICA

La cardiomiopatia amiloidotica è una malattia stimolante, in cui l'intero percorso diagnostico è pieno di trappole. Le diverse metodiche di imaging e gli esami di laboratorio non vanno usati singolarmente ma devono essere considerati come complementari tra loro e non in alternativa l'uno all'altro. In altri termini la domanda non è “qual è il migliore esame diagnostico”, ma “qual è il più utile ed appropriato per ogni step del percorso diagnostico”.

La diagnosi di certezza sia di amiloidosi sia del tipo di amiloidosi è sempre stata associata alla documentazione istologica dei depositi di amiloide nelle biopsie degli organi clinicamente affetti e alla tipizzazione delle fibrille con le metodiche di immunoistochimica e, recentemente, con le più innovative indagini di spettrometria di massa. Attualmente il ricorso alla biopsia endomiocardica è stato però ridimensionato dalla crescente accuratezza diagnostica offerta da altre metodiche di imaging non invasivo ed, in particolare, dalla scintigrafia con traccianti ossei.

Nel 2016, dalla collaborazione di clinici ed esperti provenienti da diversi centri internazionali per la cura dell'amiloidosi, è emerso un consenso che illustra l'algoritmo diagnostico dei pazienti con amiloidosi cardiaca (figura 7) suggerendo come nella maggior parte dei casi di ATTR possa essere raggiunta la diagnosi senza necessità di biopsia⁵⁷. L'algoritmo è nato da uno studio retrospettivo multicentrico volto a valutare il valore diagnostico della scintigrafia nell'CA-ATTR. L'analisi, eseguita su 374 pazienti con biopsia endomiocardica e corroborata in un'intera coorte di 1217 pazienti (pazienti riferiti ai centri partecipanti nel sospetto di amiloidosi cardiaca, di cui 857 con diagnosi finale di amiloidosi e 360 senza amiloidosi), ha mostrato che l'uptake cardiaco (“visual score” 1, 2 o 3) alla scintigrafia con traccianti ossei ha una sensibilità del 99% ma non è completamente specifico per amiloidosi TTR-relata (68% di specificità comparata con la biopsia); la bassa specificità risulta in gran parte dal basso grado (grado 1) di uptake in pazienti con amiloidosi AL o CA secondaria ad apolipoproteina A1. La specificità dei gradi 2 o 3 di uptake aumenta a 87%, ma la sensibilità scende al 91%. Poiché è assolutamente essenziale evitare la diagnosi errata di CA-ATTR in un paziente che ha una CA-AL che richiede chemioterapia, lo scopo principale

dei criteri diagnostici proposti è stato quello di raggiungere un'alta specificità. La specificità ed il valore predittivo positivo per la CA-ATTR, in presenza di un grado di captazione 2 o 3 alla scintigrafia associato all'assenza di una componente monoclonale (all'immunofissazione sierica ed urinaria ed al dosaggio delle catene leggere libere sieriche delle immunoglobuline), era pari a 100%.

Pertanto, sulla base di questo studio, l'algoritmo diagnostico proposto prevede, una volta sospettata la CA con l'ecocardiogramma e/o la risonanza magnetica, l'esecuzione di esami ematici ed urinari per ricercare un'eventuale discrasia plasmacellulare e l'effettuazione di una scintigrafia con traccianti ossei (^{99m}Tc -DPD; ^{99m}Tc -PYP, ^{99m}Tc -HMDP). Se tutti questi esami risultano negativi la diagnosi di CA è molto improbabile. Nel caso, invece, di positività per captazione miocardica intensa (grado 2 o 3) alla scintigrafia ed assenza di componente monoclonale agli esami di laboratorio, la diagnosi non solo di CA, ma addirittura di CA-ATTR può essere posta, senza la necessità di eseguire la biopsia. Invece, per i pazienti con grado 1 di uptake cardiaco o con grado ≥ 2 ma con associata componente monoclonale la conferma istologica e la tipizzazione delle fibrille rimane ancora indispensabile per un diagnosi finale di certezza⁵⁷.

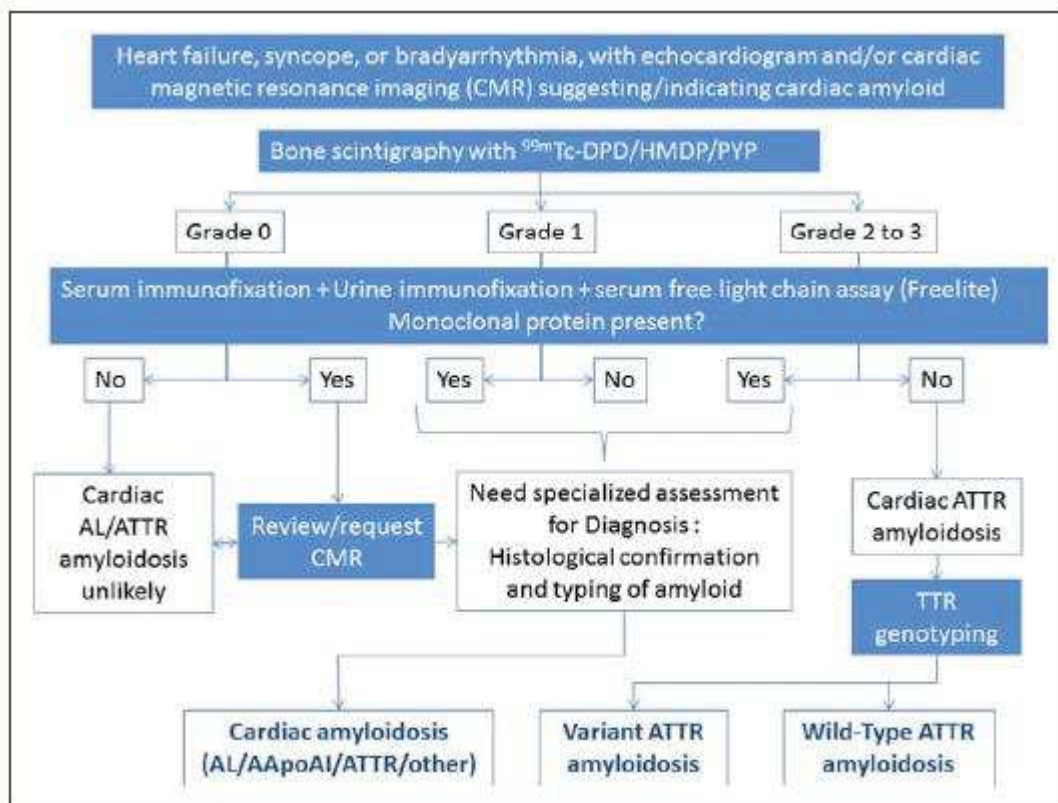


Figura 7 - Algoritmo diagnostico per i pazienti con sospetta cardiomiopatia amiloidotica (CA). (adattata da *Gillmore et al. Circulation 2016*)⁵⁷.

TERAPIA

La terapia della CA prevede una terapia specifica, diversa tra le varie forme di CA, mirata alla riduzione o interruzione della produzione della proteina precursore dei depositi di amiloide. A questa può essere associata una terapia di supporto per le manifestazioni cardiache.

TERAPIA DI SUPPORTO

Nel trattamento dell'amiloidosi cardiaca i diuretici sono fondamentali per ridurre la congestione venosa ma il loro impiego deve essere ponderato attentamente, poiché un'eccessiva riduzione del precarico in pazienti con fisiopatologia restrittiva può portare ad un calo del riempimento ventricolare con conseguente bassa portata cardiaca ed ipotensione⁹. Non vi è un ruolo dimostrato nel rimodellamento ventricolare né degli ACE-inibitori né dei beta-bloccanti. Gli ACE inibitori andrebbero usati con cautela per il rischio di ipotensione arteriosa, soprattutto nei pazienti con coinvolgimento del sistema nervoso autonomo. La portata cardiaca inoltre è strettamente cronodipendente. Per tale motivo anche i beta-bloccanti andrebbero dosati attentamente, dato il rischio di sindrome da bassa portata, mentre andrebbero evitati i calcio-antagonisti, in considerazione del loro marcato effetto inotropo negativo⁹. Storicamente la digossina è sempre stata controindicata nell'amiloidosi cardiaca, poiché studi in vitro suggerivano che essa potesse legarsi alle fibrille di amiloide, determinando un danno tossico diretto. In realtà uno studio recente ha ridimensionato questo aspetto e ha dimostrato che, in casi selezionati e con un attento monitoraggio, la digossina può essere utilizzata per raggiungere un adeguato controllo della frequenza cardiaca nei pazienti con aritmie sopraventricolari⁷⁴.

In caso di flutter o fibrillazione atriale, a prescindere dal rischio cardioembolico valutato con lo 'score' CHA₂DS₂-VASc, la terapia anticoagulante orale con Warfarin o con anticoagulanti orali ad azione diretta (DOACs) è mandatoria (non ci sono esperienze specifiche con i DOACs, ma nessun motivo per non usarli). Inoltre, è bene considerare che la grave disfunzione atriale associata alla CA può predisporre ad un aumento del rischio

tromboembolico anche in presenza di ritmo sinusale⁷⁵. Nonostante la fisiopatologia restrittiva e il conseguente rilevante contributo atriale, una strategia di controllo del ritmo in caso di fibrillazione atriale si dimostra spesso inefficace o gravata da complicanze. In uno studio recente della Mayo Clinic⁷⁶ i pazienti con CA programmati per cardioversione elettrica esterna (CVE) avevano un tasso di cancellazione significativamente elevato principalmente a causa di un'elevata incidenza di trombi intracardiaci anche tra i pazienti che avevano ricevuto un'adeguata anticoagulazione. Nei restanti pazienti sottoposti a CVE, sebbene la percentuale di successo del ripristino del ritmo sinusale fosse elevata, le tachiaritmie ventricolari e le bradiaritmie che complicavano la procedura erano significativamente più frequenti nei pazienti con CA rispetto ai pazienti di controllo.

Il ruolo dell'impianto di defibrillatore (ICD) nella CA rimane poco chiaro, sia per il meccanismo della morte improvvisa, che sembra essere prevalentemente legato alla dissociazione elettromeccanica piuttosto che a ritmi defibrillabili, sia per la prognosi infausta dei pazienti con CA e severa disfunzione sistolica⁷⁷. Secondo le più recenti indicazioni l'uso dell'ICD andrebbe riservato ai pazienti con anamnesi di aritmie ventricolari sostenute, emodinamicamente instabili e con aspettativa di vita maggiore di 1 anno.

TERAPIA SPECIFICA NELL'AMILOIDOSI AL

Il trattamento dell'amiloidosi AL per molti anni si è basato solamente sulla chemioterapia diretta contro il clone plasmacellulare. Sopprimendo il clone la chemioterapia riduce la concentrazione delle catene leggere circolanti, passaggio fondamentale per migliorare la disfunzione d'organo ed aumentare la sopravvivenza dei pazienti. Più recentemente, diversi approcci terapeutici diretti contro i depositi di amiloide sono stati sviluppati e testati in trial clinici, gettando le basi per una possibile terapia di combinazione tra questi e la chemioterapia.

La chemioterapia dell'amiloidosi AL si basa sui regimi sviluppati per il mieloma multiplo. In realtà, l'amiloidosi AL non è meramente una malattia ematologica e la disfunzione di uno o più organi, ed in particolare la disfunzione cardiaca secondaria al deposito di amiloide, non solo determina la sopravvivenza in questa patologia, ma limita anche l'accesso dei pazienti ai trattamenti aggressivi antitumorali. Pertanto, è richiesto un approccio terapeutico basato sulla stratificazione del rischio del paziente, che preveda eventuali riduzioni dei dosaggi e modifiche della programmazione dei regimi

chemioterapici ed uno stretto monitoraggio della risposta ematologica ed organo-specifica. Gli attuali ‘score’ di rischio validati prevedono la classificazione dei pazienti sulla base sostanzialmente del coinvolgimento cardiaco, quantificato con i valori di NTproBNP e troponina, essendo questi importanti predittori di sopravvivenza (tabella 2)¹⁵.

Staging system	Markers and thresholds	Stages	Outcomes*
Cardiac (NT-proBNP based)	NT-proBNP >332 ng/L cTnT >0.035 ng/mL (or cTnI >0.01 ng/mL)	I. No markers above the cutoff II. One marker above the cutoff IIIa. Both markers above the cutoff and NT-proBNP <8500 ng/L IIIb. Both markers above the cutoff and NT-proBNP ≥8500 ng/L	I. Median survival not reached, 57% with 10-y survival II. Median survival 67 mo IIIa. Median survival 15 mo IIIb. Median survival 4 mo
Cardiac (BNP based)	BNP >81 ng/L cTnI >0.1 ng/mL	I. No markers above the cutoff II. One marker above the cutoff IIIa. Both markers above the cutoff and BNP <700 ng/L IIIb. Both markers above the cutoff and BNP ≥700 ng/L	I. Median survival 151 mo, 57% with 10-y survival II. Median survival 53 mo III. Median survival 13 mo IV. Median survival 4 mo
Revised Mayo Clinic	NT-proBNP >1800 ng/L cTnT >0.025 ng/mL dFLC >180 mg/L	I. 0 markers above the cutoff II. 1 marker above the cutoff III. 2 markers above the cutoff IV. 3 markers above the cutoff	I. Median survival not reached, 57% with 10-y survival II. Median survival 69 mo III. Median survival 16 mo IV. Median survival 6 mo
Renal	eGFR <50 mL/min per 1.73 m ² proteinuria >5 g per 24 h	I. Both eGFR above and proteinuria below the cutoffs II. Either eGFR below or proteinuria above the cutoffs III. Both eGFR below and proteinuria above the cutoffs	I. 1% risk of dialysis at 2 y II. 12% risk of dialysis at 2 y III. 48% risk of dialysis at 2 y

Tabella 2. Sistemi di stratificazione prognostica validati per l’amiloidosi AL. (adattata da *Palladini et al. Blood 2020*)¹⁵. cTnT: troponina T; FLC catene leggere libere; dFLC: differenza tra le catene leggere libere circolanti (differenza tra catena coinvolta (‘amiloidogena’) e catena non coinvolta); eGFR: velocità di filtrazione glomerulare. Inoltre, un enorme sforzo a livello internazionale è stato fatto per stabilire e validare dei criteri per monitorare la risposta ematologica, cardiaca e renale al trattamento (tabella 3). La risposta dovrebbe essere verificata almeno ogni 2 cicli di chemioterapia, misurando le catene leggere libere sieriche e i biomarker di disfunzione d’organo. I pazienti che falliscono nell’ottenere una “very good partial response (VGPR)”, una risposta completa (CR) o una risposta d’organo (OR) (tabella 3) dovrebbero essere sottoposti ad un trattamento di seconda linea.

Category	Criteria
HR	CR (all of the following criteria must be met): <ul style="list-style-type: none"> • Serum and urine immunofixation negative for monoclonal protein • Normalized free light chain ratio VGPR reduction of dFLC below 40 mg/L PR 50% reduction of dFLC
Organ response	Kidney: a 30% reduction in 24h urine protein excretion or a drop of proteinuria below 0.5 g per 24 h in the absence of progressive renal insufficiency, defined as a decrease in eGFR to 25% over baseline. Heart (NT-proBNP based): reduction of NT-proBNP of 30% and >300 ng/L over the starting value. Baseline NT-proBNP has to be ≥ 650 ng/L to be measurable. Heart (BNP based): reduction of BNP of 30% and >50 ng/L over the starting value. Baseline BNP has to be ≥ 150 ng/L to be measurable.
CHOR model	Patients are classified in 2 CHOR groups according to a score based on the HR and organ response criteria <ul style="list-style-type: none"> • Score for HR: CR, 0; VGPR, 1; PR, 2; no response, 3 • Score for organ response: response in all organs involved, 0; response in at least 1 but not all the organs involved, 1; no organ response, 2. CHOR group 1, score 0-3 CHOR group 2, score 4-5

Tabella 3. Criteri validati per valutare la risposta al trattamento chemioterapico nell'amiloidosi AL.

(adattata da *Palladini et al. Blood 2020*)¹⁵. HR risposta ematologica; CHOR combinazione tra risposta ematologica e risposta d'organo.

L'introduzione del trapianto autologo di cellule staminali (ASCT) è stato un grande passo in avanti nel trattamento dell'amiloidosi AL. Tuttavia, la selezione inappropriata dei pazienti era responsabile di una mortalità correlata al trapianto (TRM) inaccettabile ed è diventato presto chiaro che la maggior parte dei pazienti era troppo fragile per ricevere l'ASCT. Nel tempo, una più raffinata selezione dei pazienti ha portato ad una progressiva riduzione della TRM, sebbene questo miglioramento sia limitato ai pazienti senza interessamento cardiaco⁷⁸. Pertanto, ai pazienti con rilevante disfunzione cardiaca sono solitamente riservati schemi chemioterapici di prima linea con Ciclofosfamide-Bortezomib-Desametasone (CyBorDex), Bortezomid-Melphalan-Desametasone (BMDex) o Melphalan-Desametasone (MDex), in pazienti con controindicazioni al Bortezomib (figura 8). Le dosi dei farmaci sono poi aggiustate in base all'età del paziente, allo stadio di coinvolgimento cardiaco, alla funzionalità renale ed epatica. Il trapianto di cuore può essere proposto nei pazienti con una disfunzione cardiaca irreversibile ed avanzata, nonostante una risposta ematologica completa (CR). Inoltre, il trapianto di cuore, seguito dal trapianto di cellule staminali, può essere considerato nei pazienti giovani con interessamento cardiaco isolato e severo scompenso cardiaco¹⁵.

Nel trattamento dell'amiloidosi AL nell'ultimo decennio sono stati sviluppati nuovi approcci non-chemioterapici, basati su terapia con anticorpi monoclonali che si legano ai depositi di amiloide e, stimolando la risposta immunitaria, ne promuovono la fagocitosi. Tra i diversi farmaci immunoterapici testati (anticorpi monoclonali diretti contro le catene leggere di amiloide (NEOD001 e Daratumumab) o contro la glicoproteina SAP (Dezamizumab)) ad oggi solo Daratumumab ha terminato un trial clinico di fase III (trial randomizzato-controllato di confronto tra Daratumumab + Ciclofosfamide-Bortezomib-Desametasone e Ciclofosfamide-Bortezomib-Desametasone) dimostrando un'efficacia nell'ottenere una risposta ematologica, cardiaca e renale (in tutti gli stadi di coinvolgimento cardiaco e renale) e una sopravvivenza libera da progressione di malattia più alta rispetto al convenzionale schema chemioterapico⁷⁹.

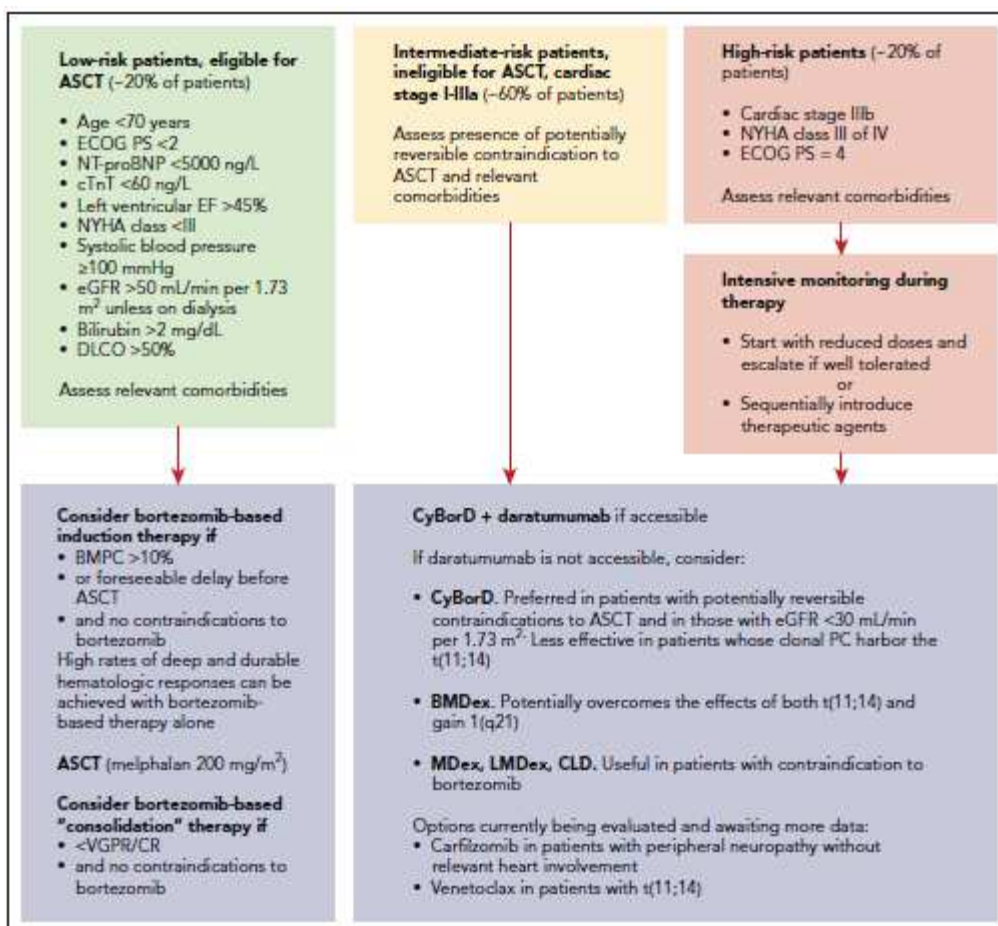


Figura 8 - Strategie terapeutiche nell'amiloidosi AL.

(adattata da Palladini et al. Blood 2020)¹⁵. BMPC infiltrato plasmacellulare nel midollo osseo.

TERAPIA SPECIFICA NELL'AMILOIDOSI DA TRANSTIRETINA

Le strategie terapeutiche specifiche per l'ATTR, dirette contro il processo amiloidogenico, sono nate inizialmente per trattare l'amiloidosi ereditaria da mutazione V30M della TTR (prima forma diagnosticata, nota come polineuropatia amiloidotica familiare [FAP]). La prima soluzione proposta è stata la rimozione della fonte di TTR mutata mediante trapianto ortotopico di fegato (OLT), essendo quest'organo responsabile del 99% della produzione di tale proteina. Ad oggi sono stati eseguiti più di 2000 trapianti di fegato per ATTRm, principalmente per la mutazione V30M. Il tasso di sopravvivenza a 5 anni da OLT è pari a 82% nei pazienti con mutazione V30M, rispetto a 59% nei pazienti non-V30M⁸⁰. I migliori risultati si ottengono quando la procedura viene eseguita in pazienti giovani in cui la malattia è ad uno stadio iniziale⁸⁰. Questa forma di "terapia genica chirurgica" è però gravata da diversi problemi. In primo luogo, la scarsa disponibilità d'organi, la necessità di una terapia immunosoppressiva cronica e l'età sempre più avanzata dei soggetti affetti rendono l'OLT un'opzione terapeutica non attuabile su larga scala. Inoltre, l'OLT non apporta nessun vantaggio nei pazienti affetti da CA-ATTRwt, poiché in questo caso vi è il deposito di una proteina non mutata. Infine, nei pazienti con disfunzione cardiaca l'OLT rallenta, ma non arresta la cardiomiopatia. Questo fenomeno è dovuto al cosiddetto 'effetto nido': la TTR 'wild-type' prodotta dal fegato trapiantato infiltra vari organi, spinta alla fibrillogenesi dai depositi di amiloide già presenti nei tessuti prima del trapianto. Questo effetto è molto più marcato in pazienti con fibrille di TTR mutata frammentate (tipo A) rispetto a depositi con fibrille intatte (tipo B, tipiche dei pazienti con mutazione V30M)⁸¹. Pertanto, il trapianto di fegato non è una soluzione pratica e radicale al problema dell'ATTR. Il trapianto combinato cuore-fegato può essere considerato in quei pazienti che presentano coinvolgimento cardiaco (in assenza di interessamento neurologico) o nei pazienti con mutazione non-V30M, candidati per OLT, con documentazione ecocardiografica di severa CA, anche in assenza di franchi sintomi cardiovascolari.

In considerazione dei diversi limiti del trapianto di fegato negli ultimi 10 anni sono stati sviluppati numerosi farmaci potenzialmente in grado di migliorare la prognosi dei pazienti affetti da ATTR. Queste nuove strategie terapeutiche agiscono in diversi passaggi specifici del processo fisiopatologico, inclusa la soppressione della sintesi epatica di transtiretina, la stabilizzazione del tetramero e il riassorbimento dei depositi di amiloide (figura 9).

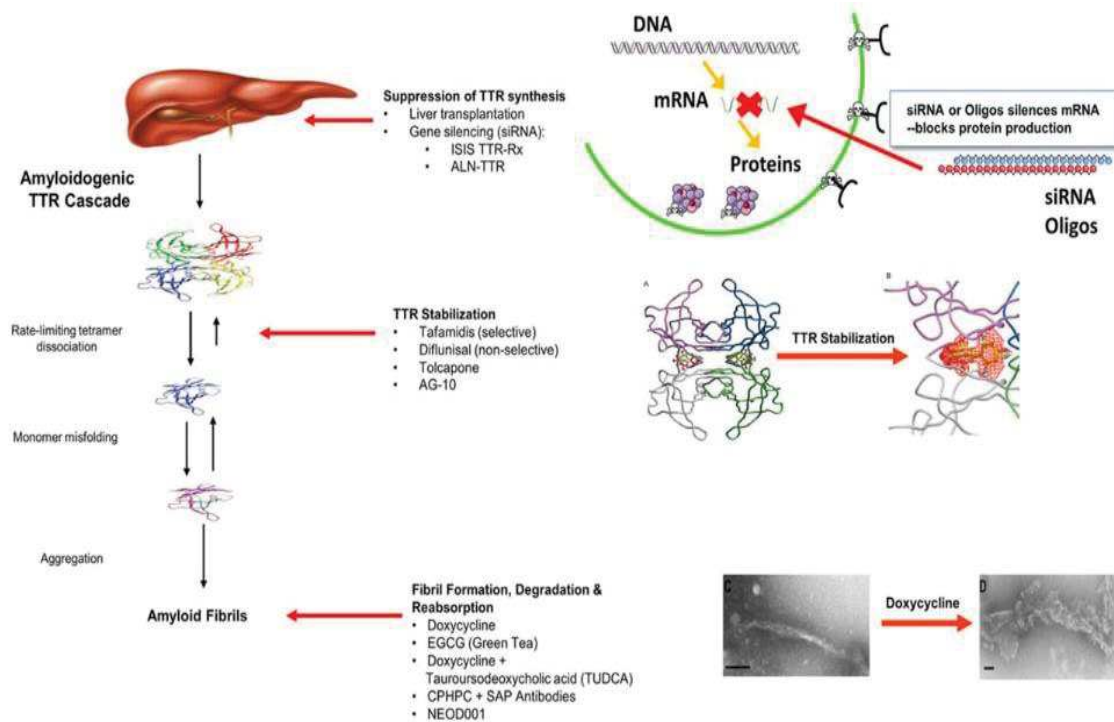


Figura 9 - Rappresentazione schematica dei target di trattamento nell'ATTR.

Il primo passo è la produzione epatica di TTR, seguita dal rilascio del tetramero nel sangue. Il punto critico nella genesi dei depositi di amiloide è la dissociazione del tetramero in monomeri, cui segue l'aggregazione in fibrille mature. I farmaci volti a fermare il processo amiloidogenico agiscono bloccando la sintesi di TTR, bloccando i siti di legame per la tiroxina con conseguente stabilizzazione del tetramero oppure promuovendo la rimozione di fibrille già depositate. SAP, componente sierica P dell'amiloide; siRNA, small interfering RNA; TUDCA, acido biliare taurodesossicolico. (adattata da Maurer *et al. Circulation* 2017)⁸².

L'inibizione della sintesi di TTR a livello epatico può essere raggiunta interferendo o bloccando l'RNA messaggero (mRNA), evitando perciò che questo venga tradotto in proteina all'interno dei ribosomi. Due agenti sono stati studiati per questa strategia: i siRNA (small interfering RNA, siRNA) e gli oligonucleotidi antisenso (ASO); essi sono in grado di prevenire la

produzione sia di TTR “wild-type” sia di TTR mutata ed essere quindi un potenziale trattamento per entrambi i tipi di ATTR. Due farmaci in questa categoria, Patisiran (siRNA, somministrato per via endovenosa) ed Inotersen (ASO, somministrato per via sottocutanea) hanno terminato i trial clinici di fase III in pazienti con ATTRm e polineuropatia, documentando, rispetto al placebo, un’efficacia su endpoint clinici neurologici, valutati con scale multiparametriche (‘modified Neuropathy Impairment Score’ e/o ‘Norfolk Quality of Life Questionnaire-Diabetic Neuropathy’)^{83,84}. È invece tuttora in corso il trial clinico di fase III con Patisiran nei pazienti ATTRm-CA.

Le molecole stabilizzatrici del tetramero della TTR sono piccole molecole che svolgono la loro azione legandosi ai siti di legame per la tiroxina impedendo in tal modo la frammentazione della proteina in monomeri, precursori dei depositi fibrillari.

Tafamidis è stato il primo farmaco di questa categoria a dimostrare efficacia in termini di endpoint neurologici nei pazienti con polineuropatia da ATTRm ed è da diverso tempo disponibile in commercio con questa indicazione. Nel 2018 è terminato il trial clinico randomizzato-controllato di fase III di valutazione dell’efficacia di Tafamidis nei pazienti con scompenso cardiaco da ATTR-CA sia mutata sia ‘wild-type’, che ha dimostrato una riduzione della mortalità per tutte le cause e dei ricoveri per scompenso nei pazienti trattati col farmaco rispetto al gruppo con placebo⁸⁵.

Attualmente, Tafamidis è l’unico farmaco approvato per la CA-ATTR negli Stati Uniti (ancora in corso è l’approvazione di Tafamidis da parte dell’agenzia europea del farmaco (EMA)), mentre Patisiran e Inotersen sono approvati sia in Europa sia negli Stati Uniti per il trattamento dell’ATTRm con neuropatia.

Altri farmaci sono oggetto di valutazione in studi clinici o pre-clinici, tra cui:

- AG-10, un farmaco orale che stabilizza efficacemente i tetrameri della TTR (NCT03860935, NCT04418024);
- AKCEA-TTR-LRx, un oligonucleotide antisense somministrato per via sottocutanea ogni 4 settimane che prende di mira gli epatociti in modo molto più selettivo rispetto a Inotersen, essendo così più efficace nel silenziare

l'espressione genica di TTR e con meno effetti avversi sistemici. Uno studio dedicato sta valutando la sua sicurezza ed efficacia nei pazienti con neuropatia periferica (NCT04136184);

- Vutrisiran, uno siRNA (simile a Patisiran) che può essere somministrato per via sottocutanea ogni 3 mesi (NCT04153149);
- Anticorpi specifici che inducono la rimozione dei depositi di amiloide nei tessuti. L'anticorpo monoclonale PRX004 è in grado di legarsi specificamente ai depositi tissutali di TTR, ma lo studio di fase 1 (NCT03336580) è stato prematuramente terminato a causa della pandemia da COVID-19.

Questi nuovi farmaci sembrano avere approcci promettenti nel modificare la storia naturale della malattia ed alcuni di questi hanno già dimostrato benefici clinici, come sopra riportato. La scelta tra questi diversi approcci terapeutici non fa affidamento solo sulla valutazione della loro sicurezza ed efficacia in popolazioni diverse di pazienti, quali quelle con interessamento cardiaco e/o neurologico, ma anche sulla loro approvazione da parte delle autorità regolatorie e sulla loro possibilità di rimborso. Ad oggi non esistono criteri definiti per l'identificazione di coloro che rispondono o non rispondono al trattamento con Tafamidis, Patisiran o Inotersen. Pertanto, decisioni quali continuare un farmaco, passare da un farmaco all'altro o associare due farmaci rimangono empiriche. L'identificazione di criteri precoci di risposta al trattamento è sicuramente un obiettivo importante della ricerca futura.

PARTE SPERIMENTALE

BACKGROUND E SCOPO DELLO STUDIO

La cardiomiopatia amiloidotica è stata tradizionalmente considerata una malattia rara, inserita nel gruppo eterogeneo delle cardiomiopatie restrittive per la presenza di una prevalente disfunzione diastolica. I progressi nella diagnosi non invasiva⁵⁷, insieme allo sviluppo di nuove terapie specifiche, soprattutto per l'ATTR, hanno cambiato radicalmente la percezione e l'interesse per tale patologia e negli ultimi anni numerosi sforzi sono stati fatti per indagarne maggiormente la fisiopatologia. Diverse osservazioni derivate da studi con metodiche non invasive ed, in particolare, dall'utilizzo di parametri ecocardiografici non convenzionali, quali lo studio della deformazione miocardica, hanno sfidato il paradigma della disfunzione diastolica 'pura', dimostrando un importante ruolo della disfunzione sistolica nella CA^{42,86}. In questo contesto recente pochi studi, tutti gravati da una piccola numerosità del campione, hanno indagato il profilo emodinamico invasivo dei pazienti con CA nelle tre diverse eziologie e in nessun caso era disponibile una completa caratterizzazione morfo-funzionale all'ecocardiogramma, comprensiva dei parametri più innovativi, nella stessa popolazione^{87,88}.

Pertanto, data l'elevata disponibilità di dati emodinamici di pazienti sottoposti presso il nostro Centro a cateterismo cardiaco destro contestualmente all'esecuzione di biopsia endomiocardica per fini diagnostici, ci siamo proposti di:

- eseguire una caratterizzazione del profilo emodinamico ed ecocardiografico nelle tre diverse eziologie di amiloidosi cardiaca (AL, ATTRm e ATTRwt),
- valutare le differenze del profilo emodinamico ed ecocardiografico tra pazienti in fase iniziale ed in fase avanzata di scompenso cardiaco,
- indagare il ruolo prognostico delle principali variabili cliniche e strumentali invasive e non invasive.

MATERIALI E METODI

DISEGNO DELLO STUDIO

Abbiamo condotto uno studio osservazionale-retrospettivo analizzando i dati clinici e strumentali di pazienti consecutivi che hanno ricevuto una diagnosi di CA mediante biopsia endomiocardica (BEM) presso il nostro Centro, nel periodo compreso fra il 1992 e dicembre 2019. La raccolta dei dati è stata effettuata mediante l'utilizzo di un database centralizzato. Le cartelle cliniche dei pazienti sono state revisionate al fine di estrarre dati clinici, laboratoristici, elettrocardiografici, ecocardiografici ed emodinamici invasivi al momento della prima valutazione. Inoltre, sono stati raccolti dati in merito agli eventi clinici significativi occorsi durante il follow-up. Tutti i pazienti ricevevano terapia medica ottimale inclusa terapia diuretica, secondo giudizio clinico.

Sono stati esclusi dallo studio pazienti con un periodo di follow-up inferiore a 6 mesi, pazienti con severa disfunzione ventricolare sinistra da pregresso infarto miocardico o con concomitante stenosi aortica di grado severo e pazienti sottoposti a trattamento specifico per ATTR (es. stabilizzatori della transtiretina).

I pazienti hanno sottoscritto un consenso informato per la raccolta dei dati a scopi scientifici in forma anonima.

DEFINIZIONI E CRITERI DIAGNOSTICI

DIAGNOSI DI AMILOIDOSI CARDIACA

L'esecuzione della biopsia endomiocardica è stata motivata da fini diagnostici. Pertanto, è stata effettuata con lo scopo di confermare la diagnosi di amiloidosi cardiaca e di dirimerne l'eziologia in pazienti con quadri ecocardiografici suggestivi di CA.

La diagnosi di amiloidosi è stata posta sulla base della dimostrazione istologica della caratteristica birifrangenza "apple green" al microscopio a luce polarizzata, dopo fissazione del prelievo con il colorante Rosso Congo.

CARDIOMIOPATIA AMILOIDOTICA (CA)

L'interessamento cardiaco è stato definito su base ecocardiografica dalla presenza di:

- spessore del setto interventricolare in telediastole maggiore di 12 mm, in assenza di altre cause plausibili di ipertrofia ventricolare, associato ad altri rilievi tra cui:
- ispessimento omogeneo dei foglietti di una valvola atrio-ventricolare
- ispessimento del setto interatriale
- ispessimento della parete libera del ventricolo destro
- aspetto “granulare” del setto interventricolare.

DIAGNOSI EZIOLOGICA

Per la diagnosi eziologica certa sono stati considerati i seguenti criteri:

-Cardiomiopatia amiloidotica transtiretino-relata: documentazione ecocardiografica di cardiomiopatia, presenza di depositi di amiloide alla colorazione con Rosso Congo dei campioni biotici ed indagine immunostochimica positiva per TTR (e indagini immunostochimiche negative per presenza di catene leggere delle immunoglobuline).

La distinzione tra forma ATTR mutata e ‘wild-type’ è stata effettuata sulla base di presenza di mutazione del gene della transtiretina nel primo caso ed assenza nel secondo.

-Cardiomiopatia amiloidotica da amiloidosi AL: documentazione ecocardiografica di cardiomiopatia, presenza di depositi di amiloide alla colorazione con Rosso Congo dei campioni biotici ed indagine immunostochimica positiva per catene leggere delle immunoglobuline (e indagini immunostochimiche negative per TTR) e documentazione di componente monoclonale agli esami di laboratorio (in un soggetto senza mutazione del gene della transtiretina) tramite l'esecuzione di immunofissazione sierica ed urinaria e dosaggio delle catene leggere libere delle immunoglobuline nel siero.

Nei casi in cui le indagini immunoistochimiche non risultassero dirimenti per la diagnosi eziologica (per coesistenza di positività sia per le catene leggere sia per la TTR) sono state eseguite analisi con spettrometria di massa sui medesimi campioni biotici.

DEFINIZIONI CLINICHE

Lo scompenso cardiaco (SC) avanzato è stato definito dalla presenza di importanti segni e/o sintomi di SC (classe NYHA III-IV) al momento della prima valutazione presso il nostro Centro o durante il follow-up.

Il coinvolgimento renale è stato definito come la presenza nelle urine delle 24 ore di proteine ≥ 0.5 g/die e l'insufficienza renale come velocità di filtrazione glomerulare (VFG) < 60 ml/min./1.73 m².

Il coinvolgimento del sistema nervoso periferico è stato definito per la presenza di segni e sintomi neurologici, quali la tipica neuropatia periferica senso-motoria simmetrica ascendente. L'insufficienza autonoma, invece, è stata definita dalla presenza di ipotensione ortostatica e disturbi gastroenterici non legati ad infiltrazioni d'organo diretto.

METODICHE STRUMENTALI

BIOPSIA ENDOMIocardica ED ANALISI ISTOLOGICA

Tutti i campioni istologici (5 campioni/paziente) sono stati allestiti in soluzione al 10% di formalina, sono stati trattati con irradiazione per 5 minuti, processati in forno a microonde e fissati con paraffina. Sono state esaminate multiple sezioni previa colorazione con ematossilina-eosina, tricromica di Mallory e Rosso Congo, al fine di identificare la presenza di amiloide mediante il riscontro di birifrangenza "apple green" al microscopio a luce polarizzata.

L'analisi immunoistochimica è stata eseguita con il metodo Labeled Strept Avidin Biotin (LSAB) usando anticorpi diretti contro la transtiretina e contro catene leggere (κ , λ) delle immunoglobuline. La colorazione dei depositi di amiloide è stata classificata come lieve (1+) o forte (da 2 a 3+).

L'indagine di spettrometria di massa è stata effettuata sui frammenti bioptici fissati in formalina ed inclusi in paraffina, da cui sono state estratte le proteine, successivamente digerite in peptidi con tripsina. La massa dei peptidi, sottoposti a ionizzazione, è stata quindi analizzata con spettrometria di massa tandem, generando così una sorta di “impronta digitale” peptidica della proteina. Algoritmi al computer hanno abbinato tale impronta con un database di riferimento, identificando in tal modo la proteina d'origine⁵⁹.

ANALISI GENETICA

Il DNA è stato isolato dai leucociti del sangue periferico e le mutazioni puntiformi per il gene della transtiretina sono state studiate con la tecnica di ibridizzazione con oligonucleotide allele-specifico (ASO) e mediante analisi dei polimorfismi dei frammenti di restrizione (RFLP) di DNA amplificato, ottenuto con l'utilizzo della “Polymerase Chain Reaction” (PCR).

ELETTROCARDIOGRAMMA ED ECOCARDIOGRAMMA

Per tutte le diagnosi e le misure elettrocardiografiche si è fatto riferimento alle definizioni standard⁸⁹. L'ECG è stato definito patologico in presenza di almeno uno dei seguenti reperti:

- bassi potenziali del QRS (ampiezza dei complessi QRS in tutte le derivazioni periferiche $\leq 0,5$ mV e/o ampiezza in tutte le derivazioni precordiali ≤ 1 mV)
- fibrillazione atriale e/o disturbi di conduzione atrio-ventricolare ed intraventricolare (blocco atrioventricolare, blocco di branca, emblocco anteriore o posteriore sinistro)
- anomalie del segmento ST e dell'onda T o pattern di ‘pseudo-infarto’.

Le valutazioni e le misure ecocardiografiche sono avvenute in accordo con le raccomandazioni della Società Europea di Ecocardiografia^{90,91}.

Il pattern di riempimento del ventricolo sinistro è stato valutato con il Doppler pulsato, posizionando il volume campione all'apice dei lembi valvolari mitralici ed è stato considerato restrittivo se soddisfatti i seguenti criteri: 1) ‘deceleration time’ < 150 msec; 2) onda E/onda A > 2.5 .

La massa ventricolare è stata considerata aumentata se superiore a 110 g/m² nelle femmine e superiore a 130 g/m² nei maschi. La frazione di contrazione miocardica ('myocardial contraction fraction' MCF), una misura volumetrica di accorciamento del miocardio, è stata definita come il rapporto tra volume di eiezione (SV) e il volume miocardico (MV) ((volume telediastolico ventricolare sinistro – volume telesistolico ventricolare sinistra)/(massa ventricolare sinistra/1,04))⁴⁶.

DATI EMODINAMICI

I dati emodinamici sono stati misurati durante la stessa procedura in cui è stata eseguita la biopsia endomiocardica. Il cateterismo cardiaco è stato effettuato con accesso venoso giugulare destro e le pressioni intracardiache e polmonari sono state misurate prima dell'esecuzione della biopsia endomiocardica.

I dati emodinamici raccolti includono pressione atriale destra (PA_{dx} normale ≤ 6 mmHg), pressione sistolica e telediastolica del ventricolo destro, morfologia a tipo "dip-plateau" del riempimento ventricolare destro, pressione di incuneamento arteriolare polmonare (pulmonary artery wedge pressure) (PAWP normale ≤ 12 mmHg), pressioni polmonari (valore normale di pressione arteriosa polmonare media (PAP_m) < 25 mmHg), resistenze vascolari polmonari (RVP normale < 3 Wood Units), indice cardiaco (IC range di normalità: 2,5 - 4 L/min/m²), gittata sistolica indicizzata (normale ≥ 33 ml/m²), portata cardiaca (PC range di normalità: 4 - 8 L/min), frequenza cardiaca. L'indice cardiaco è stato calcolato mediante il metodo della termodiluizione.

FOLLOW-UP

Le visite di follow-up nel periodo di studio sono state effettuate ogni 6 mesi o prima, se necessario dal punto di vista clinico. Il periodo di follow-up si è chiuso a giugno 2020. Lo stato clinico dei pazienti che non hanno eseguito una visita nei 6 mesi precedenti, è stato accertato mediante contatto telefonico con il paziente stesso e/o con il medico curante.

Gli eventi clinici maggiori (morte e ricoveri per scompenso cardiaco per somministrazione di diuretico per via endovenosa), che si sono verificati durante il periodo di studio, sono stati tutti registrati.

ANALISI STATISTICA

I dati del database utili alla nostra analisi sono stati espressi come media \pm DS, mediana e range interquartile (25° e 75° percentile) per le variabili quantitative continue; nel caso di variabili qualitative e ordinali invece, come frequenze assolute e relative. Nelle tabelle di contingenza, l'indipendenza delle variabili categoriche è stata testata utilizzando il test di Fisher o il test del chi-quadrato di Pearson (secondo la regola di Cochran). L'indipendenza delle variabili continue è stata analizzata utilizzando il test di Mann-Whitney U/Kruskal-Wallis. Per confronti multipli abbiamo calcolato i valori di p con il test di 'Bonferroni- adjusted'. La sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da eventi clinici maggiori (morte e/o ricovero per scompenso cardiaco) è stata analizzata con curve di Kaplan-Meyer, la cui significatività statistica è stata valutata tramite il test log-rank. I pazienti sottoposti a trapianto di fegato e/o cuore sono stati censurati al momento del trapianto d'organo. Per esplorare i fattori di rischio associati agli eventi clinici maggiori (mortalità e scompenso cardiaco) è stata eseguita un'analisi di regressione di Cox per le principali variabili cliniche e strumentali. L'analisi multivariata è stata poi eseguita inserendo nel modello le variabili considerate significative all'analisi univariata ($p < 0,1$). Le analisi sono state condotte utilizzando STATA 11.2 SE (Stata Corporation, Texas, TX). Valori di $p < 0,05$ sono stati considerati significativi.

RISULTATI

Caratteristiche della popolazione

Sono stati inclusi nelle analisi 224 pazienti con diagnosi di cardiomiopatia amiloidotica sottoposti a biopsia endomiocardica e cateterismo cardiaco destro durante il periodo di studio. Di questi pazienti 93 (42%) erano affetti da amiloidosi AL, 66 (29%) da ATTRm e 65 (29%) da ATTRwt.

Le mutazioni della transtiretina, riscontrate nei pazienti con ATTRm erano le seguenti: I68L (n=23), E89Q (n=16), V30M (n=7), T49A (n=5), P64L (n=3), S50R (n=2), S23N (n=2), T59K (n=2), V122I (n=1), A36P (n=1), H88R (n=1), E54K (n=1), Q92K (n=1), R34T (n=1).

Dati clinici ed elettrocardiografici

La tabella 4 riassume le principali caratteristiche cliniche nella popolazione totale e nelle tre eziologie. Come atteso, il gruppo di pazienti con ATTRwt è costituito prevalentemente da soggetti di sesso maschile (94%) con un'età mediana più avanzata ((77 [71-79] anni; superiore di circa 15 e 20 anni rispetto ai pazienti con amiloidosi AL ed ATTRm) ed una peggiore funzionalità renale. I pazienti con amiloidosi AL presentano una durata di malattia più breve, dei valori significativamente più bassi di pressione arteriosa e più elevati di frequenza cardiaca, oltre che un maggiore coinvolgimento renale.

La sindrome del tunnel carpale risulta essere frequente sia nei pazienti con ATTRwt (n=27, 42%), sia nei pazienti con ATTRm (n=32, 48%), mentre è rara nell'AL (n=9, 10%); al contrario una disfunzione del sistema nervoso autonomico è caratteristica solo della forma ereditaria dell'ATTR (n=33; 50%) e poco rappresentata anche nell'AL (n=10, 11%). I valori mediani di biomarcatori (NtproBNP e troponina) sono omogeneamente elevati nelle tre eziologie (NTproBNP nella popolazione totale: 5925 [2233-10470] pg/ml); inoltre, non vi sono differenze significative tra le tre forme nemmeno in termini di frequenza di scompenso cardiaco avanzato (Classe NYHA III-IV) alla prima valutazione clinica.

Dal punto di vista elettrocardiografico un ECG patologico è presente nella maggior parte dei pazienti in tutti e 3 i gruppi (90% in AL, 97% in ATTRm

e 98% in ATTRwt). I bassi potenziali del QRS sono caratteristici della forma AL (56% vs 26% (ATTRm) vs 23% (ATTRwt), $p < 0.0001$), mentre la fibrillazione atriale, il ritmo da pace-maker ed il blocco di branca sinistra sono più frequenti nell'ATTRwt (40%, 14% e 17% rispettivamente). Alterazioni della ripolarizzazione ventricolare o pattern 'pseudo-infartuali' sono piuttosto rappresentati in tutte le eziologie (tabella 5).

Dati ecocardiografici

Dall'analisi dei dati ecocardiografici dell'intera popolazione, emerge come la cardiomiopatia amiloidotica, nel complesso, sia caratterizzata da un marcato aumento simmetrico dello spessore delle pareti del ventricolo sinistro in assenza di dilatazione dei ventricoli, dalla presenza di dilatazione atriale sinistra e conservata frazione di eiezione del ventricolo sinistro (FEVsn mediana 54 % [43,5-63]); in più del 50% dei casi si associa anche un versamento pericardico.

I pazienti con amiloidosi AL si differenziano rispetto ai pazienti ATTR, sia mutati sia 'wild-type', per la presenza di ridotti diametri e volumi ventricolari e minori valori di spessori parietali e di massa ventricolare sinistra; dal punto di vista funzionale presentano indici di disfunzione diastolica più marcati (maggiore frequenza del pattern transmitralico restrittivo (presente nel 45% dei casi), elevati valori di E/e', valori ridotti di 'deceleration-time' dell' onda E), mentre hanno una minore alterazione degli indici di disfunzione sistolica longitudinale (onda S al TDI e strain longitudinale), quando confrontati all'ATTRwt. I valori di frazione di eiezione del ventricolo sinistro, invece, non mostrano variazioni significative tra le tre eziologie, così come non vi sono differenze in termini di frequenza di rigurgito mitralico e tricuspide significativo (tabella 6).

Dati emodinamici

La tabella 7 mostra i principali dati emodinamici. Quando analizzati nell'intera popolazione i dati del cateterismo cardiaco documentano un quadro di scompenso biventricolare a riposo in più della metà dei pazienti, con aumentati valori di pressione atriale destra (7 [4-11] mmHg; PAdx > 6 mmHg in 53% dei casi) e di pressione capillare media (17 [11-21] mmHg;

PAWP > 12 mmHg in 69% dei casi), una riduzione dell' indice cardiaco (2,4 [1,9-2,8] l/min/m²) come risultato di una ridotta gittata sistolica (gittata sistolica indicizzata 30,4 [24,8-37,4] ml/m²), valori mediani di pressione polmonare media ai limiti superiori della norma (24 [17-29] mmHg, PAPm ≥ 46% dei casi) e normali resistenze vascolari polmonari (1,7 [1,2-2,6] WU). Una morfologia a 'dip-plateau' della curva pressoria ventricolare destra, parametro comunemente utilizzato per documentare una fisiopatologia restrittiva, è presente solo in una minoranza di pazienti (14%).

Analizzando i dati relativi alle specifiche eziologie, si documenta che i pazienti con ATTRm presentano un profilo emodinamico migliore rispetto sia ai pazienti con ATTRwt sia a quelli con AL. In particolare, hanno valori mediani di pressioni di riempimento (PADx e PAWP) significativamente più bassi e meno frequentemente patologici, normali valori di pressioni polmonari (22 [14-27] mmHg) e valori di gittata sistolica ed indice cardiaco ai limiti inferiori della norma (2,4 [2,0-3,0] l/min/m²).

Al contrario i pazienti con AL e i pazienti con ATTRwt presentano elevati valori di PADx e PAWP e ridotti valori di gittata sistolica, senza variazioni significative tra le due eziologie (gittata sistolica indicizzata 29,4 [23,3-36,9] l/m² in AL vs 29,7 [24,6-37,5] l/m² in ATTRwt). Nel confronto tra AL e ATTRwt si segnala unicamente un maggiore indice cardiaco nei pazienti con AL, secondario ad un' aumentata frequenza cardiaca e valori maggiori di pressione polmonare media nei soggetti con ATTRwt.

La figura 10 mostra la frequenza dei principali dati morfo-funzionali alterati, valutati con l'ecocardiogramma e il cateterismo cardiaco, dei pazienti in cui erano disponibili tutte le variabili considerate (n=113).

Confronto tra pazienti con o senza scompenso cardiaco avanzato alla prima valutazione

Alla prima valutazione 145 pazienti erano in classe funzionale NYHA I o II, mentre 79 pazienti presentavano un quadro clinico più avanzato, essendo in classe NYHA III o IV. Analizzando i dati clinici dei due gruppi non emergono differenze in termini di distribuzione dei sessi (sesso maschile: 80% in NYHA I/II vs 75% in NYHA III/IV) o di età mediana (64 [53-74] in

NYHA I/II vs 66 [57-76] in NYHA III/IV). I pazienti con scompenso cardiaco avanzato, rispetto ai pazienti in classe NYHA I/II, presentano valori pressori significativamente più bassi, peggiori indici di funzionalità renale e, come atteso, una maggiore elevazione dei biomarcatori (Troponina T 112 [89-126] vs 46 [36-72] ng/l, $p 0,02$ e NTproBNP 9071 [7099-11855] vs 3236 [1679-9653] pg/ml, $p < 0,0001$) (tabella 8).

Dal punto di vista elettrocardiografico i pazienti in classe NYHA III/IV hanno un ECG patologico in tutti i casi (100% vs 92% in NYHA I/II, $p 0,009$) e una frequenza significativamente maggiore di fibrillazione atriale e bassi potenziali del QRS (tabella 9).

All'ecocardiogramma non emergono differenze significative tra i due gruppi per tutti i parametri morfologici (inclusi diametri, volumi, spessori parietali e massa del ventricolo sinistro, aree del ventricolo destro), eccetto per le dimensioni dell'atrio sinistro, che risultano essere maggiori nei pazienti in classe NYHA più avanzata (diametro 49 vs 46 mm, $p 0,002$).

Dal punto di vista funzionale, al contrario, i principali indici sia di funzione diastolica (presenza di pattern restrittivo, rapporto E/A aumentato, ridotto 'deceleration-time') sia di funzione sistolica ventricolare sinistra (onda S al TDI, MCF, strain longitudinale, radiale e circonferenziale) appaiono maggiormente alterati nei pazienti con scompenso avanzato, con differenze statisticamente significative, rispetto al gruppo in classe NYHA I/II.

Anche la frazione di eiezione del ventricolo sinistro si riduce nei pazienti con scompenso avanzato, sebbene il valore mediano rimanga ai limiti inferiori della norma (FE 50 [37-60] %) e un valore inferiore a 40% si riscontri in meno di un terzo di pazienti (28%). La frazione di variazione delle aree (FAC) del ventricolo destro, unico indice disponibile di funzione sistolica ventricolare destra, risulta anch'essa lievemente ridotta nei pazienti in NYHA avanzata. Tutte queste alterazioni degli indici funzionali si traducono in una riduzione significativa dei valori di gittata sistolica e portata cardiaca già all'ecocardiogramma nei pazienti con scompenso avanzato (tabella 10).

Questi ultimi rilievi sono confermati anche dai dati emodinamici invasivi (tabella 11). Infatti, i pazienti in classe NYHA III/IV, rispetto al gruppo in classe NYHA I/II, oltre ad avere valori più elevati di pressione atriale destra e di pressione capillare, presentano una marcata riduzione della gittata

sistolica, della portata cardiaca e dell'indice cardiaco, con valori mediani francamente patologici.

Analisi di sopravvivenza ed implicazioni prognostiche delle principali variabili clinico-strumentali

Durante un follow-up mediano di 28 (range interquartile [10-59]) mesi, 118 (52%) dei 224 pazienti inclusi nell'analisi, sono deceduti. Di questi pazienti 53 (45%) erano affetti da amiloidosi AL, 22 (19%) ATTRm e 43 (36%) da ATTRwt. 153 pazienti, durante il follow-up, hanno presentato un evento clinico maggiore tra morte e ricovero ospedaliero per scompenso cardiaco. La figura 11 riporta la sopravvivenza totale (A) e la sopravvivenza libera da eventi clinici maggiori (morte ed ospedalizzazione per scompenso cardiaco) (B) nelle tre eziologie. Come atteso, i pazienti affetti da amiloidosi AL hanno una prognosi peggiore rispetto sia ai pazienti con ATTRwt sia ai pazienti con ATTRm, in termini sia di sopravvivenza totale ($p = 0,003$) che di sopravvivenza libera da eventi ($p = 0,0022$).

I principali parametri clinici-laboratoristici (età alla diagnosi, eziologia, NYHA III/IV alla presentazione, frequenza cardiaca, NTproBNP, VFG), ecocardiografici (massa ventricolare sinistra, FE, strain globale longitudinale, MCF, E/e') ed emodinamici invasivi (PADx, PAWP, PAPm, CI) sono stati inizialmente indagati con un'analisi di regressione di Cox volta ad indentificare i fattori predittivi di eventi clinici maggiori (mortalità e scompenso cardiaco). È stato successivamente costruito un modello di analisi multivariata includente i parametri risultati statisticamente significativi all'analisi univariata. Da questo modello sono stati esclusi NTproBNP, VFG e strain globale longitudinale, nonostante risultassero significativi, per l'assenza di dati completi in tutti i pazienti.

L'età, lo scompenso cardiaco avanzato alla presentazione (NYHA III/IV), la frequenza cardiaca aumentata ed elevati valori di pressione atriale destra sono risultati essere sfavorevolmente associati ad eventi clinici maggiori, mentre l'eziologia ATTRwt, valori più elevati di MCF e di indice cardiaco al cateterismo risultano avere un ruolo protettivo (tabella 12).

DISCUSSIONE

Questo studio, che, a nostra conoscenza, include la più ampia casistica di pazienti con amiloidosi cardiaca sottoposti a cateterismo cardiaco destro, ci ha permesso di ottenere un'accurata caratterizzazione del profilo emodinamico e delle alterazioni morfo-funzionali ecocardiografiche nelle tre diverse eziologie e di confrontare tali parametri in base al grado di gravità clinica dei pazienti.

Tradizionalmente, la cardiomiopatia amiloidotica è stata considerata una forma di cardiomiopatia restrittiva e la fisiopatologia dello scompenso cardiaco è stata comunemente attribuita alla disfunzione diastolica. Sebbene la CA possa essere annoverata tra le cause di scompenso cardiaco a frazione di eiezione conservata (HFpEF) e sia stato anche recentemente documentato che possa essere una causa relativamente frequente in questa categoria (fino al 13% dei casi in una coorte di pazienti ricoverati per HFpEF)²⁶, la relazione tra disfunzione diastolica e sistolica nella CA è piuttosto articolata e va ben oltre al semplice parametro della frazione di eiezione del ventricolo sinistro. Nel nostro studio, dall'analisi comparativa tra pazienti in diverso stadio di malattia è evidente come, fin dalle fasi iniziali, alterazioni dei parametri di disfunzione diastolica (E/e') si accompagnino a dati patologici di funzione sistolica longitudinale del ventricolo sinistro (marcata riduzione dell'onda S al TDI e dei valori di strain longitudinale), nonostante la presenza di normali valori di FE. Nei pazienti in fase più avanzata, pur in presenza di un grado invariato di spessori parietali e massa ventricolare sinistra, si assiste ad un progressivo deterioramento sia dei parametri funzionali diastolici (con un aumento anche della frequenza di un vero e proprio pattern transmitralico restrittivo) sia sistolici, con un calo significativo anche della frazione di eiezione, sebbene nel complesso rimanga conservata (FE 50% [37-60] %; FE < 40% nel 28% dei pazienti con NYHA III/IV). Dal punto di vista morfologico l'unico parametro che differenzia le forme più avanzate è la presenza di aumentate dimensioni dell'atrio sinistro, dato conforme ad altre casistiche, che hanno documentato anche un ruolo prognostico dell'area atriale sinistra nella CA, in particolare nella forma AL⁹².

Al cateterismo cardiaco, il complesso intreccio tra le alterazioni della funzione sistolica e diastolica della CA si traduce in un quadro globalmente caratterizzato da elevate pressioni di riempimento biventricolare in più della metà dei pazienti, ridotta gittata sistolica ed indice cardiaco e lieve aumento delle pressioni polmonari, in assenza di un contestuale aumento delle resistenze vascolari polmonari. Da segnalare che una morfologia a ‘dip-plateau’, marker patognomonico di una fisiopatologia restrittiva, è presente in meno del 15% dei pazienti.

Dall’analisi di confronto tra le 3 principali eziologie emerge che i pazienti con amiloidosi AL, rispetto a quelli con ATTR, presentano un quadro morfologico all’ecocardiogramma meno marcato, delineato da un minor aumento degli spessori parietali e della massa ventricolare sinistra, che si accompagna però a ridotti volumi del ventricolo sinistro. Queste ridotte dimensioni della cavità ventricolare, verosimilmente secondarie al rapido aumento dello spessore parietale (dovuto ai depositi di amiloide e all’edema inter ed extracellulare) che, considerata la storia naturale di questa forma, avviene in un minor lasso temporale, incidono nel ridurre la gittata sistolica e contribuiscono alla disfunzione diastolica, maggiormente rappresentata in questa eziologia, rispetto alle forme di ATTR. I parametri della funzione sistolica longitudinale del ventricolo sinistro (onda S al TDI e strain longitudinale) sono alterati in tutte le eziologie con valori sostanzialmente paragonabili, anche la frazione di eiezione presenta misure omogenee nei tre gruppi.

Al cateterismo cardiaco i pazienti con amiloidosi AL, nonostante le minori alterazioni strutturali, presentano un profilo emodinamico sostanzialmente sovrapponibile a quello dei pazienti con ATTRwt, caratterizzato in entrambi i casi da elevati valori di pressione atriale destra e pressione capillare e da una ridotta gittata sistolica indicizzata. L’indice cardiaco rimane ai limiti inferiori della norma nell’AL, mentre risulta chiaramente patologico nell’ATTRwt; questa differenza è secondaria ad una minore frequenza cardiaca nei soggetti con ATTRwt, possibile espressione di un grado iniziale di insufficienza cronotropa in pazienti significativamente più anziani e con maggiore frequenza di disturbi di conduzione e alterazioni del ritmo cardiaco, in cui più difficilmente la bassa gittata sistolica viene compensata

con un adeguato aumento della frequenza cardiaca. Altro dato significativo e anch'esso potenzialmente correlato all'età più avanzata è la presenza di valori di pressione polmonare media aumentati nell'ATTRwt (26 [21-32] mmHg vs 23 [18-29] mmHg in AL). L'ATTRm, invece, è associata ad un profilo emodinamico complessivamente migliore rispetto alle altre due forme, per la presenza di valori di pressione atriale destra e capillare più bassi, normali pressioni polmonari e gittata sistolica ai limiti inferiori della norma. I dati della nostra casistica per la forma AL e ATTRwt non si discostano molto da quelli descritti da *Russo et al* in uno studio di 98 pazienti con CA da tutte e tre le eziologie sottoposti a cateterismo cardiaco destro e BEM per fini diagnostici; al contrario, nei pazienti con ATTRm Russo e colleghi dimostrano un quadro emodinamico marcatamente compromesso e peggiore rispetto alle altre forme⁸⁷. Questa differenza può essere spiegata dalla presenza di genotipi diversi tra il nostro gruppo di pazienti e quello dei colleghi della Mayo Clinic: nelle loro casistica, infatti, la mutazione più frequente dei pazienti con ATTRm è la V122I, variante che determina un fenotipo cardiologico ad esordio tardivo, con età media e presentazione clinica indistinguibile dalla forma 'wild-type', noto per avere una prognosi peggiore rispetto sia all'ATTRwt sia alle altre mutazioni della transtiretina associate a fenotipo cardiologico, quali per esempio T60A o I68L, variante, quest'ultima, prevalente nel nostro studio.

Dalle analisi di sopravvivenza, come atteso, i pazienti con amiloidosi AL mostrano una prognosi nettamente peggiore sia dei pazienti con ATTRwt, nonostante un quadro cardiaco morfologico migliore ed un profilo emodinamico analogo, sia dei pazienti con ATTRm. Pertanto, questa scarsa prognosi nell'AL verosimilmente riflette una condizione clinica più complessa, con possibili fattori extra-miocardici coinvolti, come la presenza di un'alterata regolazione vascolare per coinvolgimento del sistema nervoso autonomo ed un effetto diretto tossico delle catene leggere, oltre che ad un possibile interessamento di altri organi, tra cui in primo luogo il rene.

All'analisi multivariata, oltre ai fattori clinici già noti per avere un importante ruolo prognostico, come età, eziologia AL, scompenso avanzato alla diagnosi ed aumentata frequenza cardiaca, anche parametri strumentali

quali MCF, indice cardiaco e pressione atriale destra emergono come variabili indipendenti associate a morte e scompenso cardiaco.

Questi dati confermano quanto riportato in precedenza in altre casistiche. In particolare, l'MCF, parametro ecocardiografico di funzionalità ventricolare sinistra, che mette in relazione la gittata sistolica con la massa ventricolare sinistra, studiato primariamente nella CA, si è già dimostrato essere un predittore prognostico migliore della frazione di eiezione sia in pazienti con ATTR sia in pazienti con AL^{46,93}. Se la relazione tra indice cardiaco al cateterismo ed eventi clinici avversi è lampante, più complesse sono le motivazioni che giustificano il ruolo prognostico di valori elevati della pressione atriale destra (PAdx), dato peraltro documentato anche nello studio di *Russo et al*⁸⁷. La PAdx è stata associata a prognosi avversa in altre patologie cause di scompenso cardiaco; tra queste, evidenze consistenti sono state riportate nell'ipertensione arteriosa polmonare, nella cardiopatia dilatativa e nel predire la sopravvivenza in pazienti in attesa di trapianto cardiaco. Un aumento della PAdx può essere indice di disfunzione ventricolare destra che, nella CA è stata frequentemente descritta, in particolare negli stadi avanzati della malattia e per cui diversi meccanismi, non mutuamente esclusivi, sono ipotizzati. Infatti, l'insufficienza ventricolare destra nella CA potrebbe essere sia secondaria a sovraccarico di pressione per aumentate pressioni di riempimento ventricolare sinistro come risultato della disfunzione sisto-diastolica sinistra, sia dovuta alla diretta infiltrazione amiloidotica del miocardio ventricolare destro con conseguenti alterazioni funzionali analoghe a quelle descritte per il ventricolo sinistro. Quest'ultima ipotesi è stata recentemente supportata dai dati pubblicati da *Knight et al*, che, in una popolazione di pazienti con CA secondaria a tutte e 3 le eziologie, ha documentato un'associazione tra riduzione dei valori di TAPSE (espressione di funzionalità sistolica longitudinale del ventricolo destro) e presenza di 'late-gadolinium enhancement' a livello della parete ventricolare destra alla risonanza magnetica (espressione di infiltrazione amiloidotica), oltre a confermare il ruolo prognostico di TAPSE sia nell'ATTR sia nell'AL, elemento già emerso in studi precedenti⁹².

Un'altra possibile causa della disfunzione ventricolare destra e dell'aumento della PAdx è la presenza di una ridotta 'compliance polmonare' nei pazienti

con CA. La ridotta distensibilità del letto vascolare polmonare, sia riposo sia da sforzo, è stata riportata da *Clemmensen et al* in uno studio condotto in un esiguo numero di pazienti con CA sottoposti a cateterismo cardiaco in condizioni basali e durante esercizio. Gli autori sostengono, in modo intrigante, che la riduzione della ‘compliance polmonare’ potrebbe essere una conseguenza dell’infiltrazione amiloidotica vascolare polmonare e non semplicemente dovuta ad un’eccessiva vasocostrizione polmonare (peraltro nello studio non è stato documentato un aumento delle resistenze polmonari né a riposo né da sforzo) o ad un marcato aumento della pressione capillare (che, sebbene presente, era meno accentuato dell’aumento della pressione atriale destra da sforzo)⁹⁴.

Inoltre, un aumento della PAdx potrebbe essere associato anche ad una ridotta capacità di distensione dell’atrio, anch’esso possibile bersaglio di infiltrazione di amiloide.

Infine, è da tempo noto, che un’elevata pressione atriale destra e la secondaria congestione del sistema venoso abbiano effetti deleteri sulla perfusione degli organi, tra cui in particolare fegato e reni, che sono particolarmente dannosi nei pazienti con CA che presentano già una bassa pressione di perfusione.

Pertanto, il ruolo prognostico della PAdx probabilmente riflette la natura complessa di questo parametro, che diventa espressione finale di tutti i meccanismi patologici descritti, potenzialmente coesistenti.

CONCLUSIONI

La cardiomiopatia amiloidotica, tradizionalmente considerata una malattia con disfunzione diastolica prevalente, è in realtà caratterizzata da una fisiopatologia molto più complessa, in cui diversi processi all’interno del miocardio e verosimilmente anche extra-miocardici sono compromessi, ciascuno in modo più o meno accentuato in base sia all’eziologia sia alle fasi della patologia. Al cateterismo cardiaco la forma AL e ATTRwt, sebbene in presenza di differenti gradi di alterazioni morfologiche, hanno un profilo emodinamico analogo. L’ATTRm, invece, nella nostra casistica presenta un quadro meno patologico associato anche ad una migliore sopravvivenza. Tra

i parametri strumentali l'MCF, l'indice cardiaco e la pressione atriale destra sono emersi come predittori significativi di eventi avversi.

Limitazioni

Sebbene questo studio rappresenti la più ampia casistica di pazienti con CA con dati emodinamici invasivi, riflette l'esperienza di un singolo centro con un numero assoluto di pazienti per ciascuna eziologia relativamente piccolo.

Inoltre, la mancata presenza sistematica nel nostro database di alcuni parametri ecocardiografici per lo studio della morfologia e soprattutto della funzione sistolica longitudinale del ventricolo destro (i valori di FAC sono risultati nella norma nella coorte totale di pazienti e ai limiti inferiori nei pazienti con scompenso avanzato, ma è possibile che tale parametro, similmente alla frazione d'eiezione del ventricolo sinistro, non sia in grado di cogliere alterazioni precoci della funzione sistolica) non ci hanno permesso di approfondire il ruolo del ventricolo destro nella fisiopatologia dello scompenso cardiaco e nell'analisi del profilo emodinamico dei pazienti.

La valutazione dei fattori prognostici indipendenti è limitata dall'assenza nella nostra casistica di dati completi per alcune variabili con noto impatto prognostico (NTproBNP, strain longitudinale, E/e' e parametrici ecocardiografici della funzione ventricolare destra), che, pertanto, non sono state inserite nel modello di analisi multivariata.

TABELLE E FIGURE

Tabella 4. Caratteristiche cliniche principali nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.

	Totale (N=224)	AL (N=93)	ATTRm (N=66)	ATTRwt (N=65)	<i>p</i> *
Maschi, n (%)	175 (78)	61 (66) ^{†‡}	53 (80) [§]	61 (94)	<0.0001
Età alla diagnosi, aa	65 [54 – 75]	62 [53 – 69] [‡]	55 [47 – 63] [§]	77 [71 – 79]	<0.0001
Durata malattia, mesi	12 [4 – 27]	7 [3 – 14] [†]	24 [10 – 48] [§]	10 [3 – 17]	<0.0001
NYHA III–IV prima valutazione, n (%)	79 (35)	38 (41)	20 (30)	21 (32)	0.33
Pressione arteriosa sistolica, mmHg	120 [105 – 130]	110 [100 – 123] ^{†‡}	120 [110 – 130]	120 [110 – 135]	0.001
Pressione arteriosa diastolica mmHg	70 [66 – 80]	70 [60 – 80] [†]	78 [70 – 80]	73 [68 – 80]	0.04
Frequenza cardiaca, bpm	79 [70-90]	85 [75 – 94] ^{†‡}	77 [69 – 85]	71 [66 – 82]	<0.0001
Disfunzione autonoma, n (%)	43 (19)	10 (11) ^{†‡}	33 (50) [§]	0	<0.0001
Sindrome del tunnel carpale, n (%)	68 (30)	9 (10) ^{†‡}	32 (48)	27 (42)	<0.0001
Creatinina, mg/dl	1.2 [0.9 – 1.4]	1.1 [0.9 – 1.4]	1.1 [0.8 – 1.3]	1.3 [1.0 – 1.5]	0.54
Velocità filtrazione glomerulare, ml/min/m²	62 [46 – 79]	64 [47 – 68]	71 [55 – 95] [§]	54 [42 – 70]	0.02
Interessamento renale, n (%)	39 (17)	34 (37) ^{†‡}	2 (3)	3 (5)	0.0002
Troponin T, ng/mL	60 [37 – 108] (n=33)	42 [37 – 125] (n=13)	71 [36 – 103] (n=6)	71 [46 – 108] (n=14)	0.81
NT proBNP, pg/ml	5985 [2233 – 10474] (n=149)	6751 [2925 – 9256] (n=70)	7671 [2572 – 10808] (n=29)	4694 [1679 – 11090] (n=50)	0.9

* I valori di *P* sono stati corretti secondo il metodo Bonferroni.

† *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs m-ATTR.

‡ *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs wt-ATTR.

§ *P*<0.05 post hoc analysis: m-ATTR vs wt-ATTR.

Tabella 5. Variabili elettrocardiografiche nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.

	Totale (N=224)	AL (N=93)	ATTR-m (N=66)	ATTR-wt (N=65)	<i>p</i> *
Fibrillazione atriale, n (%)	49 (22)	11 (12)‡	12 (18)§	26 (40)	<0.0001
Pacemaker, n (%)	14 (6)	2 (2)‡	3 (5)	9 (14)	0.009
Blocco AV I grado, n (%)	46 (21)	17 (18)	15 (23)	14 (22)	0.77
QRS score totale, mV	102 [82 – 128]	87 [71 – 109]†‡	111 [93 – 136]	113 [97 – 140]	<0.0001
Bassi voltaggi QRS, n (%)	84 (38)	52 (56)†‡	17 (26)	15 (23)	<0.0001
Blocco di branca destra, n (%)	31 (14)	8 (9)	9 (14)	14 (22)	0.07
Blocco di branca sinistra, n (%)	22 (10)	4 (4)‡	7 (11)	11 (17)	0.03
Emiblocco anteriore sinistro, n (%)	73 (33)	26 (28)	29 (44)	18 (28)	0.06
Ipertrofia ventricolare sinistra (Sokolow >35 mm), n (%)	7 (3)	0	3 (5)	4 (8)	0.05
Presenza di pattern infartuali, n (%)	132 (59)	58 (63)	41 (62)	33 (51)	0.28
“Pattern ischemici” (onde T negative), n (%)	104 (46)	45 (48)	35 (53)	24 (37)	0.16
QTc, msec	462 [435 – 494]	461 [416 – 490]	470 [442 – 482]	469 [436 – 498]	0.53
ECG patologico, n (%)	212 (95)	84 (90)	64 (97)	64 (98)	0.05

* I valori di *P* sono stati corretti secondo il metodo Bonferroni.

† *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs m-ATTR.

‡ *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs wt-ATTR.

§ *P*<0.05 post hoc analysis: m-ATTR vs wt-ATTR.

Tabella 6. Variabili ecocardiografiche nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.

	Totale (N=224)	AL (N=93)	ATTRm (N=66)	ATTRwt (N=65)	<i>p</i> *
Spessore diastolico setto interventricolare, mm	17.0 [14.5 – 19.0]	16.0 [14.0 – 18.0]‡	17.0 [14.0 – 20.0]	18.0 [15.0 – 19.0]	0.03
Spessore diastolico parete posteriore Vsn, mm	15.0 [13.0 – 18.0]	15.0 [13.0 – 17.0]	15.0 [13.0 – 19.0]	16.0 [14.0 – 18.0]	0.3
Spessore medio pareti Vsn, mm	16.0 [14.0 – 18.5]	16.0 [13.5 – 17.5]‡	16.3 [13.6 – 19.0]	16.5 [15.0 – 19.0]	0.05
Massa Vsn/BSA, g/m2	203.5 [156.0 – 243.0]	190.0 [152.0 – 219.0]‡	212.0 [161.0 – 256.0]	210.5 [177.5 – 261.0]	0.009
Diametro diastolico Vsn, mm	46.0 [41.0 – 49.0]	44.0 [39.0 – 48.0]‡	46.0 [42.0 – 50.0]	46.0 [43.0 – 50.0]	0.05
Diametro sistolico Vsn, mm	32.0 [27.0 – 37.0]	30.0 [26.0 – 33.0]‡	33.0 [28.3 – 38.0]	32.0 [29.0 – 37.0]	0.004
Volume diastolico Vsn, mL	88.0 [70.0 – 110.0]	78.0 [60.0 – 103.0]†	97.0 [81.0 – 112.0]	87.0 [71.0 – 112.0]	0.004
Volume diastolico Vsn indicizzato, mL/m2	46.5 [37.0 – 59.0]	42.0 [34.7 – 51.7]†	53.0 [45.0 – 61.0]	47.0 [36.2 – 63.0]	0.0003
Volume sistolico Vsn, mL	38.0 [25.0 – 55.0]	31.0 [21.0 – 46.0]‡	44.0 [30.0 – 62.0]	39.0 [28.0 – 55.0]	0.003
Volume sistolico Vsn indicizzato, mL/m2	20.1 [15.0 – 29.0]	18.2 [12.4 – 26.0]†	24.0 [17.5 – 33.5]	21.0 [16.0 – 30.0]	0.004
Frazione d'iezione Vsn (%)	54.0 [43.5 – 63.0]	55.0 [41.0 – 64.0]	52.0 [45.0 – 63.0]	55.0 [44.0 – 62.0]	0.81
MCF, (%)	32.4 [23.3 – 39.9]	32.9 [24.0 – 44.4]	33.0 [20.8 – 38.8]	31.0 [23.3 – 39.7]	0.32
Diametro atriale sinistro, mm	46.0 [41.0 – 52.0]	46.0 [40.0 – 51.0]‡	45.0 [40.0 – 49.0]§	49.0 [44.0 – 54.0]	0.003
Area Vdx tele-diastolica, cm2	19.5 [15.9 – 24.0]	16.8 [13.4 – 22.0]‡	19.0 [15.6 – 22.0]§	23.0 [19.0 – 26.5]	0.0001
Area Vdx tele-sistolica, cm2	12.0 [9.6 – 16.0]	10.8 [8.0 – 13.0]‡	12.0 [8.9 – 15.6]	14.1 [11.0 – 18.0]	0.0007
Frazione di variazione aree (FAC) Vdx, %	36.8 [31.3 – 44.3]	37.0 [33.2 – 44.3]	38.4 [30.7 – 45.5]	35.6 [28.9 – 43.0]	0.70
Onda E, cm/s	83.5 [72.0 – 95.0] (n=121)	84.0 [74.0 – 95.0] (n=46)	89.0 [77.3 – 108.0] (n=26)	82.0 [70.8 – 92.3] (n=49)	0.35
Onda A, cm/s	53.0 [36.0 – 79.0] (n=85)	59.5 [39.0 – 79.5]‡ (n=44)	72.0 [42.0 – 91.0]§ (n=18)	37.0 [29.0 – 59.0] (n=23)	0.006
Tempo decelerazione onda E, ms	160.0 [135.0 – 197.0] (n=207)	150.0 [120.0 – 190.0]‡ (n=87)	160.0 [135.0 – 200.0] (n=64)	173.5 [149.0 – 197.0] (n=56)	0.04
E/A	1.5 [1.1 – 2.4] (n=83)	1.4 [1.06 – 2.4] (n=43)	1.2 [0.9 – 2.0] (n=18)	2.2 [1.3 – 2.7] (n=22)	0.1
Pattern riempimento restrittivo, n (%)	86 (39)	41 (45)‡	29 (43)§	16 (25)	0.02
E' settale, cm/s	4.1 [3.3 – 5.3]	4.9 [3.4 – 5.7]	4.0 [3.5 – 5.0]	4.0 [3.2 – 4.7]	0.23

	(n=107)	(n=43)	(n=22)	(n=42)	
A' settale, cm/s	4.6 [3.0 – 6.0] (n=73)	5.0 [4.0 – 5.4] (n=37)	6.0 [3.0 – 8.0] (n=15)	3.2 [2.5 – 5.0] (n=21)	0.11
S' settale, cm/s	5.0 [4.0 – 6.0] (n=107)	5.6 [4.4 – 6.6]‡	5.1 [4.1 – 6.0] (n=22)	4.6 [4.0 – 5.2] (n=42)	0.008
E' laterale, cm/s	6.0 [4.9 – 7.2] (n=94)	5.3 [4.8 – 6.0]‡	6.0 [4.5 – 7.4] (n=22)	6.6 [5.5 – 8.0] (n=37)	0.03
A' laterale, cm/s	4.8 [3.5– 7.0] (n=67)	5.4 [3.9 – 7.3] (n=31)	4.0 [3.9 – 7.0] (n=15)	4.0 [3.0 – 5] (n=21)	0.06
S' laterale, cm/s	5.8 [5.0 – 6.8] (n=94)	6.0 [4.9 – 7.6] (n=35)	5.0 [5.0 – 6.0] (n=22)	6.0 [5.0 – 6.7] (n=37)	0.42
E/ E' settale	20.0 [15.2 – 26.4] (n=105)	19.2 [14.5 – 26.3] (n=42)	21.0 [15.4 – 28.0] (n=22)	20.4 [16.7 – 25.9] (n=41)	0.81
E/E' laterale	14.0 [11.2 – 18.3] (n=93)	16.3 [11.9 – 20.9]‡	13.4 [11.3 – 20.0] (n=22)	12.7 [9.8 – 14.9] (n=36)	0.02
Rigurgito mitralico da moderato a severo, n/N (%)	38/120 (32)	11/45 (24)	11/26 (42)	16/49 (33)	0.45
Rigurgito tricuspide da moderato a severo, n/N (%)	40/142 (28)	10/47 (21)	8/38 (21)	22/57 (39)	0.21
Velocità di rigurgito tricuspide, m/s	2.6 [2.4 – 2.9] (n=83)	2.7 [2.4 – 2.9] (n=30)	2.9 [2.2 – 3.0] (n=14)	2.6 [2.4 – 2.9] (n=39)	0.58
Pressione polmonare sistolica, mm Hg	35.0 [27.0 – 40.0] (n=141)	30.0 [25.0 – 40.0] (n=43)	30.0 [25.0 – 40.0] (n=41)	35.0 [30.0 – 40.0] (n=57)	0.28
Gittata sistolica, mL/battito	48.0 [37.0 – 60.0] (n=186)	43.0 [35.0 – 58.0] (n=70)	50.0 [39.0 – 60.0] (n=57)	49.0 [37.0 – 62.0] (n=59)	0.56
Gittata sistolica indicizzata, mL/battito/m²	26.8 [20.0 – 33.6] (n=179)	26.8 [20.4 – 31.7] (n=66)	27.7 [21.9 – 34.0] (n=57)	26.0 [18.9 – 33.9] (n=56)	0.53
Portata cardiaca, L/min	3.6 [2.9 – 4.5] (n=182)	3.6 [3.0 – 4.6] (n=67)	3.8 [3.1 – 4.9] (n=56)	3.6 [2.5 – 4.3] (n=59)	0.34
Spessore parete libera Vdx, mm	9.0 [8.0 – 10.0] (n=162)	9.0 [8.0 – 10] (n=71)	9.0 [8.0 – 10.0] (n=53)	8.0 [7.0 – 10.0] (n=38)	0.21
Versamento pericardico, n (%)	129 (58)	61 (66)	39 (59)	29 (45)	0.07
Spessore setto interatriale, mm	8.0 [7.0 – 10.0] (n=147)	8.0 [7.0 – 10.0] (n=60)	9.0 [7.0 – 10.0] (n=46)	9.0 [8.0 – 10.0] (n=41)	0.24
Strain globale longitudinale, %	-12.7 [-14.6 – -10.6] (n=113)	- 13.6 [-16.0 – - 10.9]‡ (n=43)	-13.3 [-14.4 – -11.2] (n=25)	-12.5 [-13.3 – -10.4] (n=45)	0.05
Strain radiale globale (segmenti medi), %	25.0 [19.3 – 31.9] (n=115)	26.4 [18.7 – 32.4] (n=44)	26.0 [19.3 – 29.0] (n=25)	24.9 [21.0 – 28.8] (n=46)	0.96
Strain circonferenziale globale (segmenti medi) %	- 15.2 [-21.0 – - 13.0] (n=114)	-15.0 [-23.0 – -11.9] (n=44)	-17.8 [-22.7 – -14.2] (n=24)	-14.9 [-19.4 – -13.0] (n=46)	0.28

Vsn, ventricolo sinistro; BSA, body surface area; MCF, myocardial contraction fraction; Vdx, ventricolo destro.

* I valori di *P* sono stati corretti secondo il metodo Bonferroni.

† *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs m-ATTR.

‡ *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs wt-ATTR.

§ *P*<0.05 post hoc analysis: m-ATTR vs wt-ATTR.

Tabella 7. Parametri emodinamici invasivi nella popolazione totale e nelle tre eziologie di amiloidosi cardiaca.

	Totale (N=224)	AL (N=93)	ATTRm (N=66)	ATTRwt (N=65)	<i>p</i> *
PA destra media, mm Hg	7.0 [4.0 – 11.0]	7.0 [5.0 – 12.0]†	5.0 [3.0 – 10]	7.0 [5.0 – 10.0]	0.02
PA destra media aumentata (>6 mmHg), n (%)	118 (53)	54 (58)	27 (41)	37 (57)	0.07
PAWP media, mm Hg	17.0 [11.0 – 21.0]	17.0 [11.0 – 21.0]	14.0 [9.0 – 20.0]§	18.0 [13.0 – 21.0]	0.02
PAWP media aumentata (>12 mmHg), n (%)	154 (69)	68 (73)†	34 (52)§	52 (80)	0.001
Morfologia Dip-plateau curva Vdx, n (%)	31 (14)	11 (12)	8 (12)	12 (18)	0.47
Pressione sistolica Vdx, mmHg	37.0 [27.0 – 45.0]	35.0 [29.0 – 46.0]‡	32.5 [21.0 – 40.0]§	40.0 [34.0 – 50.0]	0.0006
Pressione diastolica Vdx, mmHg	7.0 [4.0 – 11.0]	7.0 [5.0 – 12.0]	5.5 [3.0 – 10]	7.0 [5.0 – 10.0]	0.75
PAP sistolica, mmHg	37.0 [27.0 – 45.0]	35.0 [28.0 – 46.0]‡	32.0 [21.0 – 40.0]§	40.0 [34.0 – 50.0]	0.0006
PAP diastolica, mmHg	15.0 [10.0 – 19.0]	14.0 [10.0 – 20.0]	14.0 [8.0 – 18.0]	17.0 [12.0 – 20.0]	0.07
PAP media, mmHg	24.0 [17.0 – 29.0]	23.0 [18.0 – 29.0]	22.0 [14.0 – 27.0]§	26.0 [21.0 – 32.0]	0.02
Frequenza cardiaca, bpm	76.0 [68.0 – 87.0]	81.0 [72.0 – 93.0]‡	78.0 [68.0 – 86.0]§	70 [62 – 79]	< 0.0001
Gittata sistolica, ml	56.5 [43.7 – 68.4]	56.0 [39.4 – 64.5]	58.1 [44.9 – 68.4]	56.6 [45.0 – 70.1]	0.25
Gittata sistolica indicizzata, ml/m ²	30.4 [24.8 – 37.4]	29.4 [23.3 – 36.9]	33.0 [26.2 – 38.4]	29.7 [24.6 – 37.5]	0.24
Portata cardiaca, l/min	4.3 [3.4 – 5.2]	4.4 [3.5 – 5.2]	4.4 [3.5 – 5.6]	4.0 [3.4 – 4.6]	0.11
Indice cardiaco, l/min/m ²	2.4 [1.9 – 2.8]	2.5 [2.0 – 2.9]‡	2.4 [2.0 – 3.0]§	2.2 [1.9 – 2.5]	0.01
Resistenze vascolari polmonari	1.7 [1.2 – 2.6]	1.6 [1.3 – 2.5]	1.5 [0.9 – 2.3]§	2.0 [1.5 – 2.8]	0.02
Indice di pulsatilità arteria polmonare	2.1 [3.2 – 5.0]	2.0 [2.9 – 5.2]	2.0 [3.2 – 5.3]	2.6 [3.4 – 4.7]	0.26
Stroke work index Vdx (g/m/battito/m ²)	6.4 [4.7 – 8.9]	6.0 [4.4 – 9.1]	6.2 [4.6 – 7.6]	7.2 [5.7 – 9.3]	0.10

PAdx, pressione atriale destra; PAWP, pressione di incuneamento arteriolare polmonare (pulmonary artery wedge pressure); Vdx, ventricolo destro; PAP, pressione arteriosa polmonare.

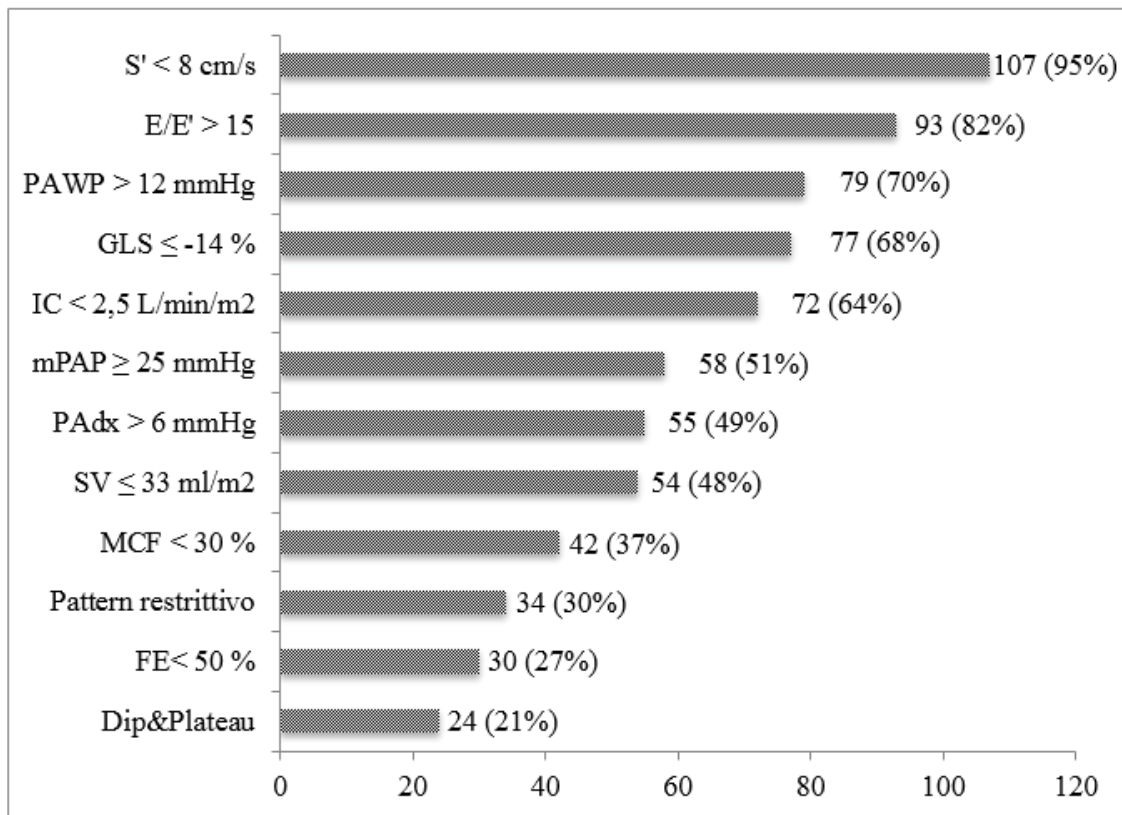
* I valori di *P* sono stati corretti secondo il metodo Bonferroni.

† *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs m-ATTR.

‡ *P*<0.05 post hoc analysis: AL vs wt-ATTR.

§ *P*<0.05 post hoc analysis: m-ATTR vs wt-ATTR.

Figura 10 - Frequenza dei principali dati morfo-funzionali alterati, valutati con l'ecocardiogramma e il cateterismo cardiaco, dei pazienti in cui erano disponibili tutte le variabili considerate (113 pazienti).



PAWP, pressione di incuneamento arteriolare polmonare (pulmonary artery wedge pressure); GLS, global longitudinal strain; IC, indice cardiaco; mPAP, pressione arteriosa polmonare media; PAdx, pressione atriale destra; SV stroke volume (gittata cardiaca); MCF, myocardial contraction fraction.

Tabella 8. Caratteristiche cliniche principali nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.

	NYHA I-II (N=145)	NYHA III-IV (N=79)	<i>p</i> *
Maschi, n (%)	116 (80)	59 (75)	0.35
Età alla diagnosi, aa	64 [53 – 74]	66 [57 – 76]	0.26
Durata malattia, mesi	12.0 [3.5 – 26.3]	9.8 [4.0 – 28.3]	0.75
AL	55 (38)	38 (48)	0.14
ATTRm	46 (32)	20 (25)	0.31
ATTRwt	44 (30)	21 (27)	0.55
Pressione arteriosa sistolica, mmHg	120 [110 – 130]	110 [100 – 120]	0.01
Pressione arteriosa diastolica mmHg	75 [70 – 80]	70 [63 – 80]	0.09
Frequenza cardiaca, bpm	76 [68 – 88]	80 [70 – 93]	0.08
Disfunzione autonoma, n (%)	30 (21)	13 (16)	0.44
Sindrome del tunnel carpale, n (%)	50 (35)	18 (23)	0.06
Creatinina, mg/dl	1.06 [0.9 – 1.3]	1.2 [1.09 – 1.6]	<0.0001
Velocità filtrazione glomerulare, ml/min/m ²	69.0 [50.4 – 89.2]	52.7 [41.8 – 66.9]	<0.0001
Interessamento renale, n (%)	21 (15)	18 (23)	0.12
Troponin T, ng/mL	46 [36 -72] (n=23)	112 [89 – 126] (n=10)	0.02
NT proBNP, pg/ml	3236 [1679 – 9653] (n=91)	9071 [7099 – 11855] (n=58)	<0.0001

Tabella 9. Variabili elettrocardiografiche nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.

	NYHA I-II (N=145)	NYHA III-IV (N=79)	<i>p</i> *
Fibrillazione atriale, n (%)	25 (17)	24 (30)	0.02
Pacemaker, n (%)	7 (5)	7 (9)	0.23
Blocco AV I grado, n (%)	29 (20)	17 (22)	0.80
QRS score totale, mV	106 [89 – 130]	90 [66 – 125]	0.003
Bassi voltaggi QRS, n (%)	38 (26)	46 (58)	<0.0001
Blocco di branca destra, n (%)	21 (14)	10 (13)	0.71
Blocco di branca sinistra, n (%)	14 (10)	8 (10)	0.91
Emiblocco anteriore sinistro, n (%)	49 (34)	24 (30)	0.60
Ipertrofia ventricolare sinistra (Sokolow >35 mm), n (%)	5 (4)	2 (3)	0.67
Presenza di pattern infartuali, n (%)	79 (54)	53 (67)	0.07
“Pattern ischemici” (onde T negative), n (%)	64 (44)	40 (51)	0.35
QTc, msec	458 [433 – 485]	473 [439 – 501]	0.09
ECG patologico, n (%)	133 (92)	79 (100)	0.009

Tabella 10. Variabili ecocardiografiche nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.

	NYHA I-II (N=145)	NYHA III-IV (N=79)	<i>p</i> *
Spessore diastolico setto interventricolare, mm	17.0 [14.0 – 19.0]	17.0 [15.0 – 20.0]	0.12
Spessore diastolico parete posteriore Vsn, mm	15.0 [13.0 – 17.0]	16.0 [13.0 – 18.0]	0.07
Spessore medio pareti Vsn, mm	16.0 [14.0 – 18.0]	17.0 [15.0 – 19.0]	0.06
Massa Vsn/BSA, g/m ²	197.0 [155.0 – 239.0]	211.0 [158.0 – 254.0]	0.18
Diametro diastolico Vsn, mm	46.0 [42.0 – 50.0]	46.0 [40.0 – 49.0]	0.34
Diametro sistolico Vsn, mm	31.0 [27.0 – 37.0]	32.0 [28.0 – 38.0]	0.13
Volume diastolico Vsn, mL	88.0 [75.0 – 110.0]	87.0 [60.0 – 112.0]	0.25
Volume diastolico Vsn indicizzato, mL/m ²	47.0 [40.0 – 59.0]	45.0 [32.0 – 59.0]	0.12
Volume sistolico Vsn, mL	38.0 [27.0 – 51.0]	41.0 [24.0 – 66.0]	0.22
Volume sistolico Vsn indicizzato, mL/m ²	20.0 [15.0 – 27.0]	22.0 [14.0 – 33.0]	0.22
Frazione d'eiezione Vsn (%)	56.0 [46.0 – 65.0]	50.0 [37.0 – 60.0]	0.002
MCF, (%)	33.8 [24.8 – 42.0]	28.2 [18.8 – 37.8]	0.002
Diametro atriale sinistro, mm	46.0 [40.0 – 51.0]	49.0 [45.0 – 55.0]	0.002
Area Vdx tele-diastolica, cm ²	20.0 [16.0 – 24.0]	19.0 [16.0 – 25.0]	0.58
Area Vdx tele-sistolica, cm ²	12.0 [9.0 – 16.0]	11.0 [10.0 – 16.0]	0.99
Frazione di variazione aree (FAC) Vdx, %	38.0 [33.0 – 46.0]	33.0 [28.0 – 40.0]	0.04
Onda E, cm/s	80.0 [70.0 – 100.0]	90 [80 – 100.0]	0.02
Onda A, cm/s	60.0 [40.0 – 80.0]	40.0 [30.0 – 60.0]	0.04
Tempo decelerazione onda E, ms	165.0 [135.0 – 200.0]	153.0 [123.0 – 189.0]	0.06
E/A	1.4 [0.9 – 2.3]	2.4 [1.3 – 2.6]	0.02
Pattern riempimento restrittivo, n (%)	48 (33)	38 (48)	0.03
E' settale, cm/s	4.0 [3.5 – 5.1]	4.6 [3.0 – 5.6]	0.82
A' settale, cm/s	5.0 [3.0 – 7.0]	3.7 [2.3 – 4.9]	0.02
S' settale, cm/s	5.1 [4.1 – 6.2]	4.7 [3.7 – 5.6]	0.04
E' laterale, cm/s	6.0 [5.0 – 7.2]	5.3 [4.6 – 7.0]	0.75
A' laterale, cm/s	5.0 [3.4 – 7.1]	4.0 [3.5 – 4.9]	0.19
S' laterale, cm/s	6.0 [5.0 – 7.2]	5.6 [5.0 – 6.2]	0.57
E/ E' settale	19.0 [15.0 – 24.0]	23.0 [15.0 – 29.0]	0.12
E/E' laterale	14.0 [11.0 – 18.0]	15.0 [12.0 – 21.0]	0.28
Rigurgito mitralico da moderato a severo, n/N (%)	26 (30)	12 (38)	0.41

Rigurgito tricuspide da moderato a severo, n/N (%)	21 (22)	19 (41)	0.02
Velocità di rigurgito tricuspide, m/s	2.6 [2.3 – 2.9]	2.7 [2.5 – 2.9]	0.66
Pressione polmonare sistolica, mm Hg	32.5 [25.0 – 40.0]	35.0 [30.0 – 40.0]	0.26
Gittata sistolica, mL/battito	52.2 [40.0 – 62.0]	40.0 [31.0 – 53.0]	<0.0001
Gittata sistolica indicizzata, mL/battito/m²	28.5 [22.5 – 34.1]	23.2 [17.2 – 28.2]	0.0001
Portata cardiaca, L/min	4.0 [3.1 – 4.8]	3.4 [2.6 – 4.0]	0.001
Spessore parete libera Vdx, mm	8.0 [7.0 – 10.0]	9.0 [8.0 – 10.0]	0.13
Versamento pericardico, n (%)	76 (53)	53 (67)	0.04
Spessore setto interatriale, mm	8.0 [7.0 – 10.0]	9.0 [7.0 – 10.0]	0.31
Strain globale longitudinale, %	- 13.2 [-15.0 – -11.5] (n=84)	- 10.6 [-12.7 – - 9.5] (n=29)	0.0005
Strain radiale globale (segmenti medi), %	26.6 [22.2 – 32.0] (n=85)	20.0 [16.1 – 25.0] (n=30)	0.0008
Strain circonferenziale globale (segmenti medi) %	- 17.5 [-21.6 – - 13.6] (n=84)	- 13.9 [- 18.0 – - 9.2] (n=30)	0.0008

Vsn, ventricolo sinistro; BSA, body surface area; MCF, myocardial contraction fraction; Vdx, ventricolo destro.

Tabella 11. Parametri emodinamici nei pazienti con amiloidosi cardiaca, suddivisi in base alla presenza di scompenso cardiaco avanzato alla presentazione.

	NYHA I-II (N=145)	NYHA III-IV (N=79)	<i>p</i> *
PA destra media, mm Hg	6.0 [4.0 – 9.0]	10.0 [6.0 – 14.0]	<0.0001
PA destra media aumentata (>6 mmHg), n (%)	61 (42)	57 (72)	<0.0001
PAWP media, mm Hg	15.0 [10.0 – 20.0]	19.0 [15.0 – 22.0]	0.002
PAWP media aumentata (>12 mmHg), n (%)	92 (63)	62 (78)	0.02
Morfologia Dip-plateau curva Vdx, n (%)	19 (13)	12 (15)	0.67
Pressione sistolica Vdx, mmHg	36.0 [25.0 – 42.0]	39.0 [31.5 – 46.5]	0.04
Pressione diastolica Vdx, mmHg	5.0 [3.0 – 8.0]	10.0 [6.0 – 14.0]	<0.0001
PAP sistolica, mmHg	35.0 [25.0 – 42.0]	39.0 [30.0 – 47.0]	0.07
PAP diastolica, mmHg	14.0 [9.0 – 19.0]	17.0 [13.0 – 21.0]	0.01
PAP media, mmHg	23.0 [15.0 – 28.0]	26.0 [20.0 – 30.0]	0.06
Frequenza cardiaca, bpm	76.0 [68.0 – 88.0]	80.0 [70.0 – 93.0]	0.08
Gittata sistolica, ml	59.2 [50.0 – 72.7]	44.9 [36.3 – 59.5]	<0.0001
Gittata sistolica indicizzata, ml/m ²	33.6 [27.4 – 38.5]	25.5 [19.1 – 32.3]	<0.0001
Portata cardiaca, l/min	4.55 [3.8 – 5.4]	3.7 [3.0 – 4.4]	<0.0001
Indice cardiaco, l/min/m ²	2.5 [2.2 – 2.9]	2.0 [1.7 – 2.4]	<0.0001
Resistenze vascolari polmonari	1.6 [1.2 – 2.3]	1.9 [1.4 – 2.8]	0.04
Indice di pulsatilità arteria polmonare	3.7 [2.7 – 5.8]	2.3 [1.8 – 3.3]	<0.0001
Stroke work index Vdx (g/m/battito/m ²)	7.1 [5.5 – 9.9]	5.4 [4.4 – 6.7]	<0.0001

PAdx, pressione atriale destra; PAWP, pressione di incuneamento arteriolare polmonare (pulmonary artery wedge pressure); Vdx, ventricolo destro; PAP, pressione arteriosa polmonare.

Figura 11 Sopravvivenza totale (A) e sopravvivenza libera da eventi clinici maggiori (morte ed ospedalizzazione per scompenso cardiaco) (B) nelle tre eziologie.

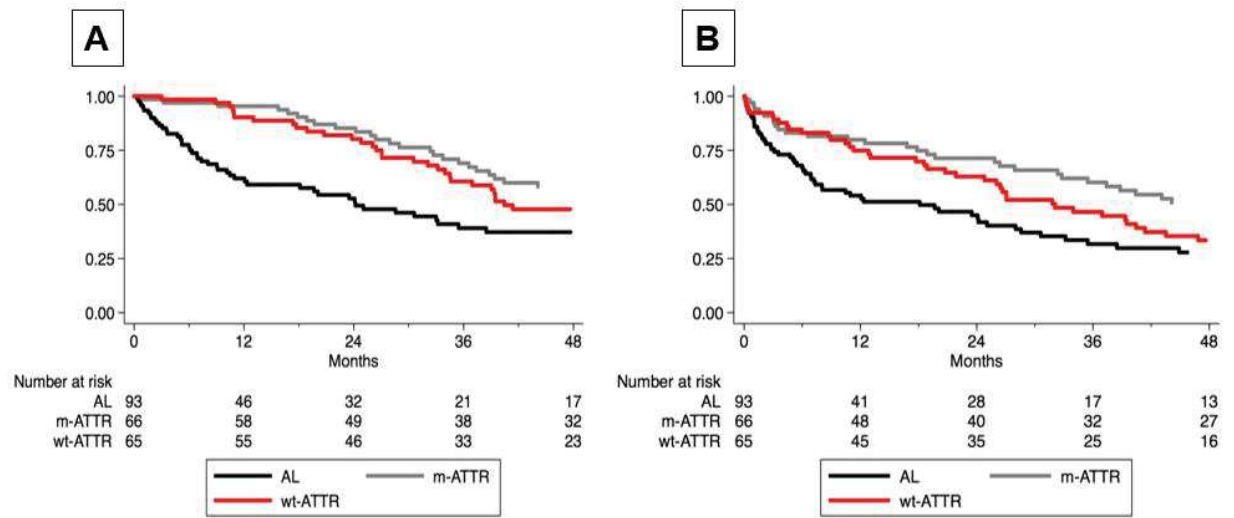


Tabella 12. Analisi multivariata di regressione di Cox per il rischio di eventi clinici maggiori nella popolazione totale.

VARIABILI	HR	95% CI	<i>p</i>
Età alla diagnosi	1,05	1,03 - 1.07	< 0,0001
Eziologia (ATTRm vs AL)	0,71	0,43 – 1,19	0,196
Eziologia (ATTRwt vs AL)	0,41	0,23 – 0.72	0,002
FC	1,02	1,01 – 1.04	0,003
MCF	0,98	0,96 – 0.99	0,014
PAP	1,04	0,99 – 1.10	0,079
PAdx	1,09	1,02 – 1.16	0,007
PAWP	0,92	0,85 – 1.01	0,078
IC (TD)	0,67	0,46 – 0.98	0,040

Harrell's C p 0,7261

FC frequenza cardiaca, MCF, myocardial contraction fraction, PAP, pressione arteriosa polmonare; PAWP, pressione di incuneamento arteriolare polmonare (pulmonary artery wedge pressure); PAdx, pressione atriale destra; IC, indice cardiaco.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Glenner GG, Ein D, Eanes ED, Bladen HA, Terry W, Page DL. Creation of 'amyloid' fibrils from Bence Jones proteins in vitro. *Science (80-)* 1971. DOI:10.1126/science.174.4010.712.
- 2 Falk RH, Dubrey SW. Amyloid Heart Disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2010. DOI:10.1016/j.pcad.2009.11.007.
- 3 Merlini G, Bellotti V. Molecular Mechanisms of Amyloidosis. *N Engl J Med* 2003. DOI:10.1056/nejmra023144.
- 4 Westermark P. Aspects on human amyloid forms and their fibril polypeptides. *FEBS J.* 2005. DOI:10.1111/j.1742-4658.2005.05024.x.
- 5 Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, *et al.* Amyloid nomenclature 2020: update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid* 2020. DOI:10.1080/13506129.2020.1835263.
- 6 Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet.* 2016. DOI:10.1016/S0140-6736(15)01274-X.
- 7 Rapezzi C, Merlini G, Quarta CC, *et al.* Systemic cardiac amyloidoses: Disease profiles and clinical courses of the 3 main types. *Circulation* 2009. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.843334.
- 8 Shi J, Guan J, Jiang B, *et al.* Amyloidogenic light chains induce cardiomyocyte contractile dysfunction and apoptosis via a non-canonical p38 α MAPK pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010. DOI:10.1073/pnas.0912263107.
- 9 Gertz MA, Dispenzieri A, Sher T. Pathophysiology and treatment of cardiac amyloidosis. *Nat. Rev. Cardiol.* 2015. DOI:10.1038/nrcardio.2014.165.
- 10 Muchtar E, Buadi FK, Dispenzieri A, Gertz MA. Immunoglobulin light-chain amyloidosis: From basics to new developments in diagnosis, prognosis and therapy. *Acta Haematol.* 2016. DOI:10.1159/000443200.
- 11 Rapezzi C, Arbustini E, Caforio ALP, *et al.* Diagnostic work-up in cardiomyopathies: Bridging the gap between clinical phenotypes and final diagnosis. A position statement from the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013.

DOI:10.1093/eurheartj/ehs397.

- 12 Perfetti V, Palladini G, Casarini S, *et al.* The repertoire of λ light chains causing predominant amyloid heart involvement and identification of a preferentially involved germline gene, IGLV1-44. *Blood* 2012. DOI:10.1182/blood-2011-05-355784.
- 13 Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, *et al.* Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet* 2010. DOI:10.1016/S0140-6736(10)60482-5.
- 14 Hutchison CA, Harding S, Hewins P, *et al.* Quantitative assessment of serum and urinary Polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008. DOI:10.2215/CJN.02290508.
- 15 Palladini G, Milani P, Merlini G. Management of AL amyloidosis in 2020. *Blood* 2020.
- 16 Arvanitis M, Simon S, Chan G, *et al.* Retinol binding protein 4 (RBP4) concentration identifies V122I transthyretin cardiac amyloidosis. *Amyloid*. 2017. DOI:10.1080/13506129.2017.1295371.
- 17 Maurer MS, Hanna M, Grogan M, *et al.* Genotype and Phenotype of Transthyretin Cardiac Amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey). *J Am Coll Cardiol* 2016. DOI:10.1016/j.jacc.2016.03.596.
- 18 Rapezzi C, Quarta CC, Obici L, *et al.* Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: An Italian perspective. *Eur Heart J* 2013. DOI:10.1093/eurheartj/ehs123.
- 19 Planté-Bordeneuve V, Ferreira A, Lalu T, *et al.* Diagnostic pitfalls in sporadic transthyretin familial amyloid polyneuropathy (TTR-FAP). *Neurology*. 2007. DOI:10.1212/01.wnl.0000267338.45673.f4.
- 20 Maurer MS, Hanna M, Grogan M, *et al.* Genotype and Phenotype of Transthyretin Cardiac Amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey). *J Am Coll Cardiol* 2016; **68**: 161–72.
- 21 Suhr OB, Lundgren E, Westermark P. One mutation, two distinct disease variants: unravelling the impact of transthyretin amyloid fibril composition. *J Intern Med* 2017; **281**: 337–47.
- 22 Hemminki K, Li X, Försti A, Sundquist J, Sundquist K. Incidence of hereditary amyloidosis and autoinflammatory diseases in Sweden:

- Endemic and imported diseases. *BMC Med Genet* 2013.
DOI:10.1186/1471-2350-14-88.
- 23 Conceição I, De Carvalho M. Clinical variability in type I familial amyloid polyneuropathy (Val30Met): Comparison between late- and early-onset cases in Portugal. *Muscle and Nerve* 2007.
DOI:10.1002/mus.20644.
- 24 Jacobson DR, Alexander AA, Tagoe C, Buxbaum JN. Prevalence of the amyloidogenic transthyretin (TTR) V122I allele in 14 333 African-Americans. *Amyloid* 2015.
DOI:10.3109/13506129.2015.1051219.
- 25 Tanskanen M, Peuralinna T, Polvikoski T, *et al.* Senile systemic amyloidosis affects 25% of the very aged and associates with genetic variation in alpha2-macroglobulin and tau: A population-based autopsy study. *Ann Med* 2008. DOI:10.1080/07853890701842988.
- 26 González-López E, Gallego-Delgado M, Guzzo-Merello G, *et al.* Wild-type transthyretin amyloidosis as a cause of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J* 2015.
DOI:10.1093/eurheartj/ehv338.
- 27 Treibel TA, Fontana M, Gilbertson JA, *et al.* Occult Transthyretin Cardiac Amyloid in Severe Calcific Aortic Stenosis: Prevalence and Prognosis in Patients Undergoing Surgical Aortic Valve Replacement. *Circ Cardiovasc Imaging* 2016.
- 28 Castano A, Narotsky DL, Hamid N, *et al.* Unveiling transthyretin cardiac amyloidosis and its predictors among elderly patients with severe aortic stenosis undergoing transcatheter aortic valve replacement. *Eur Heart J* 2017; **38**: 2879–87.
- 29 Scully PR, Treibel TA, Fontana M, *et al.* Prevalence of Cardiac Amyloidosis in Patients Referred for Transcatheter Aortic Valve Replacement. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018.
DOI:10.1016/j.jacc.2017.11.037.
- 30 Rosenblum H, Masri A, Narotsky DL, *et al.* Unveiling outcomes in coexisting severe aortic stenosis and transthyretin cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail* 2020. DOI:10.1002/ejhf.1974.
- 31 González-López E, Gagliardi C, Dominguez F, *et al.* Clinical characteristics of wild-type transthyretin cardiac amyloidosis: Disproving myths. *Eur Heart J* 2017; **38**: 1895–904.
- 32 Rapezzi C, Riva L, Quarta CC, *et al.* Gender-related risk of

- myocardial involvement in systemic amyloidosis. *Amyloid* 2008. DOI:10.1080/13506120701815373.
- 33 Nakagawa M, Sekijima Y, Yazaki M, *et al.* Carpal tunnel syndrome: A common initial symptom of systemic wild-type ATTR (ATTRwt) amyloidosis. *Amyloid* 2016; **23**: 58–63.
 - 34 Milandri A, Farioli A, Gagliardi C, *et al.* Carpal tunnel syndrome in cardiac amyloidosis: implications for early diagnosis and prognostic role across the spectrum of aetiologies. *Eur J Heart Fail* 2020. DOI:10.1002/ejhf.1742.
 - 35 Yanagisawa A, Ueda M, Sueyoshi T, *et al.* Amyloid deposits derived from transthyretin in the ligamentum flavum as related to lumbar spinal canal stenosis. *Mod Pathol* 2015; **28**: 201–7.
 - 36 Rubin J, Alvarez J, Teruya S, *et al.* Hip and knee arthroplasty are common among patients with transthyretin cardiac amyloidosis, occurring years before cardiac amyloid diagnosis: can we identify affected patients earlier? *Amyloid* 2017; **24**: 226–30.
 - 37 Grogan M, Scott CG, Kyle RA, *et al.* Natural History of Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis and Risk Stratification Using a Novel Staging System. *J Am Coll Cardiol* 2016. DOI:10.1016/j.jacc.2016.06.033.
 - 38 Grogan M, Scott CG, Kyle RA, *et al.* Natural History of Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis and Risk Stratification Using a Novel Staging System. *J Am Coll Cardiol* 2016; **68**: 1014–20.
 - 39 Gillmore JD, Damy T, Fontana M, *et al.* A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J* 2018. DOI:10.1093/eurheartj/ehx589.
 - 40 Lousada I, Comenzo RL, Landau H, Guthrie S, Merlini G. Light Chain Amyloidosis: Patient Experience Survey from the Amyloidosis Research Consortium. *Adv Ther* 2015. DOI:10.1007/s12325-015-0250-0.
 - 41 Cyrille NB, Goldsmith J, Alvarez J, Maurer MS. Prevalence and prognostic significance of low QRS voltage among the three main types of cardiac amyloidosis. *Am J Cardiol* 2014. DOI:10.1016/j.amjcard.2014.07.026.
 - 42 Quarta CC, Solomon SD, Uraizee I, *et al.* Left ventricular structure and function in transthyretin-related versus light-chain cardiac amyloidosis. *Circulation* 2014; **129**: 1840–9.

- 43 Klein AL, Hatle LK, Burstow DJ, *et al.* Doppler characterization of left ventricular diastolic function in cardiac amyloidosis. *J Am Coll Cardiol* 1989. DOI:10.1016/0735-1097(89)90254-4.
- 44 Liu PP, Smyth D. Wild Type Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy: A Missed Etiology of HFpEF with Evolving Treatment Implications. *Circulation* 2015.
- 45 Ternacle J, Bodez D, Guellich A, *et al.* Causes and Consequences of Longitudinal LV Dysfunction Assessed by 2D Strain Echocardiography in Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2016. DOI:10.1016/j.jcmg.2015.05.014.
- 46 Tendler A, Helmke S, Teruya S, Alvarez J, Maurer MS. The myocardial contraction fraction is superior to ejection fraction in predicting survival in patients with AL cardiac amyloidosis. *Amyloid* 2015. DOI:10.3109/13506129.2014.994202.
- 47 Fontana M, Chung R, Hawkins PN, Moon JC. Cardiovascular magnetic resonance for amyloidosis. *Heart Fail Rev* 2015; **20**: 133–44.
- 48 Fontana M, Banypersad SM, Treibel TA, *et al.* Native T1 mapping in transthyretin amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014. DOI:10.1016/j.jcmg.2013.10.008.
- 49 Martinez-Naharro A, Kotecha T, Norrington K, *et al.* Native T1 and Extracellular Volume in Transthyretin Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2019. DOI:10.1016/j.jcmg.2018.02.006.
- 50 Pan JA, Kerwin MJ, Salerno M. Native T1 Mapping, Extracellular Volume Mapping, and Late Gadolinium Enhancement in Cardiac Amyloidosis: A Meta-Analysis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2020. DOI:10.1016/j.jcmg.2020.03.010.
- 51 Ridouani F, Damy T, Tacher V, *et al.* Myocardial native T2 measurement to differentiate light-chain and transthyretin cardiac amyloidosis and assess prognosis. *J Cardiovasc Magn Reson* 2018. DOI:10.1186/s12968-018-0478-3.
- 52 Perugini E, Guidalotti PL, Salvi F, *et al.* Noninvasive etiologic diagnosis of cardiac amyloidosis using 99mTc-3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy. *J Am Coll Cardiol* 2005. DOI:10.1016/j.jacc.2005.05.073.
- 53 Falk RH, Lee VW, Rubinow A, Hood WB, Cohen AS. Sensitivity of technetium-99m-pyrophosphate scintigraphy in diagnosing cardiac

- amyloidosis. *Am J Cardiol* 1983. DOI:10.1016/S0002-9149(83)80140-4.
- 54 Pilebro B, Suhr OB, Näslund U, Westermark P, Lindqvist P, Sundström T. ^{99m}Tc-DPD uptake reflects amyloid fibril composition in hereditary transthyretin amyloidosis. *Ups J Med Sci* 2016; **121**: 17–24.
- 55 Perugini E, Guidalotti PL, Salvi F, *et al.* Noninvasive etiologic diagnosis of cardiac amyloidosis using ^{99m}Tc-3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy. *J Am Coll Cardiol* 2005. DOI:10.1016/j.jacc.2005.05.073.
- 56 Bokhari S, Castaño A, Pozniakoff T, Deslisle S, Latif F, Maurer MS. ^{99m}Tc-pyrophosphate scintigraphy for differentiating light-chain cardiac amyloidosis from the transthyretin-related familial and senile cardiac amyloidoses. *Circ Cardiovasc Imaging* 2013. DOI:10.1161/CIRCIMAGING.112.000132.
- 57 Gillmore JD, Maurer MS, Falk RH, *et al.* Nonbiopsy diagnosis of cardiac transthyretin amyloidosis. *Circulation* 2016; **133**: 2404–12.
- 58 Musumeci MB, Cappelli F, Russo D, *et al.* Low Sensitivity of Bone Scintigraphy in Detecting Phe64Leu Mutation-Related Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2020. DOI:10.1016/j.jcmg.2019.10.015.
- 59 Glaudemans AWJM, Van Rheeën RWJ, Van Den Berg MP, *et al.* Bone scintigraphy with ^{99m}Tc-technetium-hydroxymethylene diphosphonate allows early diagnosis of cardiac involvement in patients with transthyretin-derived systemic amyloidosis. *Amyloid* 2014. DOI:10.3109/13506129.2013.871250.
- 60 Rapezzi C, Quarta CC, Guidalotti PL, *et al.* Role of ^{99m}Tc-DPD scintigraphy in diagnosis and prognosis of hereditary transthyretin-related cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2011. DOI:10.1016/j.jcmg.2011.03.016.
- 61 Hutt DF, Fontana M, Burniston M, *et al.* Prognostic utility of the Perugini grading of ^{99m}Tc-DPD scintigraphy in transthyretin (ATTR) amyloidosis and its relationship with skeletal muscle and soft tissue amyloid. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2017. DOI:10.1093/ehjci/jew325.
- 62 Dietemann S, Nkoulou R. Amyloid PET imaging in cardiac amyloidosis: a pilot study using ¹⁸F-flutemetamol positron emission tomography. *Ann Nucl Med* 2019. DOI:10.1007/s12149-019-01372-7.

- 63 Rosengren S, Skibsted Clemmensen T, Tolbod L, *et al.* Diagnostic accuracy of [11C]PIB positron emission tomography for detection of cardiac amyloidosis. *Eur Heart J - Cardiovasc Imaging* 2019. DOI:10.1093/ehjci/jez135.003.
- 64 Kim YJ, Ha S, Kim Y il. Cardiac amyloidosis imaging with amyloid positron emission tomography: A systematic review and meta-analysis. *J Nucl Cardiol* 2020. DOI:10.1007/s12350-018-1365-x.
- 65 Rapezzi C, Quarta CC, Guidalotti PL, *et al.* Usefulness and limitations of ^{99m}Tc-3, 3-diphosphono-1, 2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in the aetiological diagnosis of amyloidotic cardiomyopathy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; **38**: 470–8.
- 66 Hendren NS, Roth LR, Grodin JL. Disease-Specific Biomarkers in Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2020. DOI:10.1007/s11897-020-00457-z.
- 67 Arvanitis M, Koch CM, Chan GG, *et al.* Identification of transthyretin cardiac amyloidosis using serum retinol-binding protein 4 and a clinical prediction model. *JAMA Cardiol* 2017. DOI:10.1001/jamacardio.2016.5864.
- 68 Ihse E, Stangou AJ, Heaton ND, *et al.* Proportion between wild-type and mutant protein in truncated compared to full-length ATTR: An analysis on transplanted transthyretin T60A amyloidosis patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; **379**: 846–50.
- 69 Quarta CC, Gonzalez-Lopez E, Gilbertson JA, *et al.* Diagnostic sensitivity of abdominal fat aspiration in cardiac amyloidosis. *Eur Heart J* 2017. DOI:10.1093/eurheartj/ehx047.
- 70 Fine NM, Arruda-Olson AM, Dispenzieri A, *et al.* Yield of noncardiac biopsy for the diagnosis of transthyretin cardiac amyloidosis. *Am J Cardiol* 2014. DOI:10.1016/j.amjcard.2014.02.030.
- 71 Solomon A, Murphy CL, Westermark P. Unreliability of immunohistochemistry for typing amyloid deposits [1]. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2008. DOI:10.1043/1543-2165(2008)132[14b:IR]2.0.CO;2.
- 72 Vrana JA, Gamez JD, Madden BJ, Theis JD, Bergen HR, Dogan A. Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood* 2009; **114**: 4957–9.

- 73 Brambilla F, Lavatelli F, Merlini G, Mauri P. Clinical proteomics for diagnosis and typing of systemic amyloidoses. *Proteomics - Clin. Appl.* 2013. DOI:10.1002/prca.201200097.
- 74 Muchtar E, Gertz MA, Kumar SK, *et al.* Digoxin use in systemic light-chain (AL) amyloidosis: contra-indicated or cautious use? *Amyloid* 2018. DOI:10.1080/13506129.2018.1449744.
- 75 Cappelli F, Tini G, Russo D, *et al.* Arterial thrombo-embolic events in cardiac amyloidosis: a look beyond atrial fibrillation. *Amyloid* 2020. DOI:10.1080/13506129.2020.1798922.
- 76 El-Am EA, Dispenzieri A, Melduni RM, *et al.* Direct Current Cardioversion of Atrial Arrhythmias in Adults With Cardiac Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol* 2019. DOI:10.1016/j.jacc.2018.10.079.
- 77 Varr BC, Zarafshar S, Coakley T, *et al.* Implantable cardioverter-defibrillator placement in patients with cardiac amyloidosis. *Heart Rhythm* 2014. DOI:10.1016/j.hrthm.2013.10.026.
- 78 D'Souza A, Dispenzieri A, Wirk B, *et al.* Improved outcomes after autologous hematopoietic cell transplantation for light chain amyloidosis: A center for international blood and marrow transplant research study. *J Clin Oncol* 2015. DOI:10.1200/JCO.2015.62.4015.
- 79 Kastritis E, Palladini G, Minnema MC, *et al.* Subcutaneous Daratumumab + Cyclophosphamide, Bortezomib, and Dexamethasone (CyBorD) in Patients with Newly Diagnosed Light Chain (AL) Amyloidosis: Primary Results from the Phase 3 ANDROMEDA Study. *EHA* 2020.
- 80 Ericzon BG, Wilczek HE, Larsson M, *et al.* Liver Transplantation for Hereditary Transthyretin Amyloidosis: After 20 Years Still the Best Therapeutic Alternative? *Transplantation* 2015; **99**: 1847–54.
- 81 Gustafsson S, Ihse E, Henein MY, Westermark P, Lindqvist P, Suhr OB. Amyloid fibril composition as a predictor of development of cardiomyopathy after liver transplantation for hereditary transthyretin amyloidosis. *Transplantation* 2012; **93**: 1017–23.
- 82 Maurer MS, Elliott P, Comenzo R, Semigran M, Rapezzi C. Addressing common questions encountered in the diagnosis and management of cardiac amyloidosis. *Circulation* 2017; **135**: 1357–77.
- 83 Adams D, Gonzalez-Duarte A, O'Riordan WD, *et al.* Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl*

- J Med* 2018. DOI:10.1056/nejmoa1716153.
- 84 Benson MD, Waddington-Cruz M, Berk JL, *et al.* Inotersen Treatment for Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med* 2018. DOI:10.1056/NEJMoa1716793.
- 85 Maurer MS, Schwartz JH, Gundapaneni B, *et al.* Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2018. DOI:10.1056/nejmoa1805689.
- 86 Chacko L, Martone R, Bandera F, *et al.* Echocardiographic phenotype and prognosis in transthyretin cardiac amyloidosis. *Eur Heart J* 2020. DOI:10.1093/eurheartj/ehz905.
- 87 Russo C, Green P, Maurer M. The prognostic significance of central hemodynamics in patients with cardiac amyloidosis. *Amyloid* 2013. DOI:10.3109/13506129.2013.821406.
- 88 Duca F, Snidat A, Binder C, *et al.* Hemodynamic Profiles and Their Prognostic Relevance in Cardiac Amyloidosis. *J Clin Med* 2020. DOI:10.3390/jcm9041093.
- 89 Goldberger's Clinical Electrocardiography. 2018
DOI:10.1016/c2014-0-03319-9.
- 90 Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, *et al.* Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American society of echocardiography and the European association of cardiovascular imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015. DOI:10.1093/ehjci/jev014.
- 91 Voigt JU, Pedrizzetti G, Lysyansky P, *et al.* Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015. DOI:10.1093/ehjci/jeu184.
- 92 Knight DS, Zumbo G, Barcella W, *et al.* Cardiac Structural and Functional Consequences of Amyloid Deposition by Cardiac Magnetic Resonance and Echocardiography and Their Prognostic Roles. *JACC Cardiovasc Imaging* 2019. DOI:10.1016/j.jcmg.2018.02.016.
- 93 RUBIN J, STEIDLEY DE, CARLSSON M, ONG MOHLIM, MAURER MS. Myocardial Contraction Fraction by M-Mode Echocardiography Is Superior to Ejection Fraction in Predicting Mortality in Transthyretin Amyloidosis. *J Card Fail* 2018.

DOI:10.1016/j.cardfail.2018.07.001.

- 94 Clemmensen TS, Mølgaard H, Sørensen J, *et al.* Inotropic myocardial reserve deficiency is the predominant feature of exercise haemodynamics in cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail* 2017. DOI:10.1002/ejhf.899.