



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA**

Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica (DSCTV)  
Direttore: Ch.mo Prof. Federico Rea

Clinica Cardiologica, Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova  
Direttore: Ch.mo Prof. Sabino Iliceto

**TESI DI LAUREA**

**TAFAMIDIS PER LA CURA DELLA CARDIOPATIA  
AMILOIDE DA TRANSTIRETINA WILD-TYPE:  
UN'ESPERIENZA MONOCENTRICA**

RELATORE: Prof. Alberto Cipriani

CORRELATRICE: Dott.ssa Laura De Michieli

LAUREANDO: Alessandro Comincioli

MATRICOLA: 1152297

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



# SOMMARIO

<b>LISTA DI ABBREVIAZIONI.....</b>	<b>4</b>
<b>1. RIASSUNTO.....</b>	<b>6</b>
<b>2. INTRODUZIONE: L'AMILOIDOSI CARDIACA.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Definizione.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Classificazione.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Epidemiologia.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Fisiopatologia.....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Clinica.....</b>	<b>16</b>
2.5.1 Manifestazioni Cardiovascolari.....	17
2.5.2 Manifestazioni Extracardiovascolari.....	17
<b>2.6 Diagnosi.....</b>	<b>19</b>
2.6.1 Sospetto.....	19
2.6.2 Test di Laboratorio.....	21
a. Catene leggere sieriche e urinarie.....	21
b. Biomarcatori cardiaci.....	21
c. Prealbumina e proteina legante il retinolo.....	23
2.6.3 Elettrocardiografia.....	24
a. Bassi voltaggi del QRS.....	24
b. Pattern di pseudonecrosi.....	25
c. Anomalie di conduzione.....	26
d. Alterazioni della ripolarizzazione ventricolare.....	26
e. Anomalie del ritmo.....	26
2.6.4 Ecocardiografia.....	27
2.6.5 Risonanza magnetica cardiaca.....	29
a. Anatomia macroscopica.....	29
b. Caratteristiche tissutali.....	30
2.6.6 Scintigrafia con tracciante osseo.....	31
2.6.7 Biopsia.....	33
2.6.8 Algoritmo diagnostico.....	34
<b>2.7 Prognosi.....</b>	<b>35</b>
<b>2.8 Follow-Up.....</b>	<b>37</b>
<b>2.9 Terapia.....</b>	<b>39</b>
2.9.1 Trattamento delle complicanze.....	39
a. Gestione dello scompenso cardiaco.....	39
b. Gestione e prevenzione delle aritmie.....	40
2.9.2 <i>Disease modifying treatment</i> per amiloidosi da catene leggere.....	41
2.9.3 <i>Disease modifying treatment</i> per amiloidosi da transtiretina.....	41
a. Trapianto d'organo.....	42
b. Inibitori dell'espressione genica di transtiretina.....	42
c. Stabilizzatori della transtiretina.....	43
d. Degradazione e riassorbimento delle fibrille di amiloide.....	44
<b>2.10 TAFAMIDIS: stabilizzatore selettivo della transtiretina.....</b>	<b>45</b>
2.10.1 Farmacodinamica.....	45
2.10.2 Somministrazione e farmacocinetica.....	46
2.10.3 Efficacia clinica e indicazioni.....	46
2.10.4 Follow-up e prognosi.....	49

2.10.5 Tollerabilità .....	50
<b>3. SCOPO DELLO STUDIO.....</b>	<b>52</b>
<b>4. MATERIALI E METODI .....</b>	<b>53</b>
4.1 Popolazione dello studio .....	53
4.2 Raccolta dei dati.....	53
4.3 Analisi statistica .....	57
<b>5. RISULTATI .....</b>	<b>58</b>
5.1 Dati demografici.....	58
4.2 Dati clinico-anamnestici.....	58
5.3 Parametri bioumorali, test funzionali e qualità della vita .....	59
5.4 Risultati di elettrocardiografia .....	61
5.5 Risultati di ecocardiografia.....	62
5.6 Outcome.....	66
<b>6. DISCUSSIONE.....</b>	<b>68</b>
6.1 Parametri bioumorali.....	68
6.2 Test funzionali e qualità della vita .....	69
6.3 Risultati di ecocardiografia.....	69
6.4 Outcome.....	70
6.5 Limiti dello studio .....	70
<b>7. CONCLUSIONE.....</b>	<b>72</b>
<b>8. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>73</b>

## LISTA DI ABBREVIAZIONI

<b>CA</b>	Cardiac Amyloidosis
<b>APP</b>	Proteina Precursore dell'amiloide
<b>Amiloidosi AL</b>	Amiloidosi da Immunoglobuline o da Catene Leggere
<b>ATTRwt</b>	Amiloidosi da Transtiretina Wild-Type
<b>ATTRv</b>	Amiloidosi Ereditaria da Transtiretina
<b>TTR</b>	Amiloidosi da Transtiretina
<b>T4</b>	Tiroxina
<b>RBP</b>	Proteina Legante il Retinolo
<b>MM</b>	Mieloma Multiplo
<b>HFpEF</b>	Scompenso Cardiaco con Frazione di Eiezione Preservata
<b>SC</b>	Scompenso Cardiaco
<b>FA</b>	Fibrillazione Atriale
<b>STC</b>	Sindrome del Tunnel Carpale
<b>FAP</b>	Polineuropatia Amiloidotica Familiare
<b>FLC</b>	Catene Leggere Libere
<b>IFE</b>	Elettroforesi con Immunofissazione
<b>rFLC</b>	Rapporto fra Catene Leggere Libere Kappa ( $\kappa$ ) e Lambda ( $\lambda$ )
<b>dFLC</b>	Differenza fra Catene Leggere Libere Kappa ( $\kappa$ ) e Lambda ( $\lambda$ )
<b>TnI</b>	Troponina I
<b>TnT</b>	Troponina T
<b>BNP</b>	Peptide Natriuretico Cerebrale
<b>NT-proBNP</b>	Frammento Amino-Terminale del Peptide Natriuretico Cerebrale
<b>IMA</b>	Infarto Miocardico Acuto
<b>PM</b>	Pacemaker
<b>TWI</b>	Inversione dell'Onda T
<b>SVAs</b>	Aritmie Sopraventricolari
<b>NSVTs</b>	Tachicardie Ventricolari Non Sostenute
<b>CMR</b>	Risonanza Magnetica Cardiaca

<b>HCM</b>	Cardiomiopatia Ipertrofica
<b>MGUS</b>	Gammopatia Monoclonale Di Significato Incerto
<b>GPO</b>	Grasso Periombelicale
<b>eGFR</b>	Estimated Glomerular Filtration Rate
<b>HRQoL</b>	Health-Related Quality of Life
<b>KCCQ</b>	Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire
<b>6MWT</b>	6-minute Walking Test
<b>ICD</b>	Defibrillatori Intracardiaci
<b>siRNA</b>	RNA Interferente Breve
<b>NIS-LL</b>	Neuropathy Impairment Score–Lower Limbs
<b>TQOL</b>	Qualità Di Vita Totale
<b>ITT</b>	Intent-To-Treat
<b>EE</b>	Efficacy Evaluable
<b>RR</b>	Rischio Relativo
<b>CAD</b>	Malattia Coronarica
<b>NYHA</b>	New York Heart Association
<b>PCR</b>	Proteina C Reattiva

# 1. RIASSUNTO

**Introduzione.** L'amiloidosi cardiaca da transtiretina (transthyretin cardiac amyloidosis, ATTR-CA) è una patologia infiltrativa in cui la proteina transtiretina (TTR), in seguito a processi di *misfolding*, si deposita a livello dell'interstizio del miocardio in forma di fibrille amiloidi. La patogenesi può essere correlata alla presenza di mutazioni nella forma ereditaria (ATTRv-CA) o a meccanismi non ancora chiariti nella forma wild-type (ATTRwt-CA), più frequente nei soggetti anziani e di sesso maschile. Tafamidis è un farmaco stabilizzatore della transtiretina che ne impedisce la degradazione e la conseguente progressione della patologia.

**Scopo dello studio.** Questo studio ha lo scopo di valutare in modo longitudinale una coorte di pazienti affetti da ATTRwt-CA trattati con tafamidis, attraverso lo studio di parametri clinici, bioumorali, elettrocardiografici ed ecocardiografici al *baseline* (cioè prima dell'introduzione della terapia) e dopo 12 mesi di trattamento. Inoltre, è stata valutata la frequenza di ospedalizzazioni per scompenso cardiaco (SC) ed eventi cerebrovascolari di questi pazienti prima dell'introduzione della terapia e dopo 12 mesi di trattamento.

**Materiali e metodi.** Studio osservazionale longitudinale retrospettivo di pazienti con diagnosi di ATTRwt-CA in terapia con tafamidis da almeno 12 mesi, valutati presso l'Ambulatorio dell'Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova. Sono stati raccolti dati clinico-anamnestici, parametri laboratoristici (inclusi TTR, troponina e peptide natriuretico di tipo B, NT-proBNP) e strumentali, nonché dati riguardanti la capacità funzionale e la qualità della vita (valutati con test del cammino dei sei minuti e questionario Kansas City per le Cardiomiopatie, rispettivamente), sia al baseline sia a 12 mesi dall'inizio della stessa. Infine, sono stati messi a confronto gli eventi di ospedalizzazione per SC nel periodo antecedente all'inizio del trattamento (dalla diagnosi all'inizio della terapia) e nei 12 mesi successivi.

**Risultati.** Sono stati inclusi 39 pazienti, di cui 37 maschi (95%) con età mediana di 77 anni (74-82). La valutazione dei parametri bioumorali non ha mostrato alterazioni statisticamente significative per i biomarcatori cardiaci tra il baseline e i valori dopo 12 mesi di trattamento [troponina = 56,0 (30,6-87,0) ng/L vs. 49,5 (31,3-68,0) ng/L,  $p=0,354$ ; NTproBNP = 1469,0 (611,0-3269,0) ng/L vs. 1661,0 (639,0-3238,0) ng/L,  $p=0,275$ ], ma si è assistito ad un aumento significativo dei valori sierici di TTR [237,0 (193,0-260,0) mg/L vs. 315,0 (268,0-350,0) mg/L,  $p<0,001$ ]. Per quanto riguarda i parametri di capacità funzionale e di qualità della vita, non sono state registrate variazioni significative in termini di distanza percorsa al test del cammino dei sei minuti e di punteggio totale al questionario Kansas City per le Cardiomiopatie. All'ecocardiografia sono emersi a 12 mesi un aumento dello spessore del setto interventricolare [18,0 (15,0-20,0) mm vs. 19,0 (17,5-21,0) mm,  $p=0,049$ ], dello spessore della parete posteriore [15,0 (14,0-17,0) mm vs. 17,0 (16,0-19,0) mm,  $p<0,001$ ] e della massa del ventricolo sinistro [307,0 (268,0-378,0) g vs. 331,0 (296,0-432,0) g,  $p=0,010$ ] e una riduzione del volume telediastolico del ventricolo sinistro [121,0 (92,0-135,0) ml vs. 100,5 (85,0-119,0) ml,  $p=0,004$ ]. Infine, l'analisi delle ospedalizzazioni per scompenso cardiaco ha mostrato una riduzione dei pazienti andati incontro ad almeno un ricovero per scompenso cardiaco tra il periodo pre-terapia e i 12 mesi di terapia [15 (38%) vs. 4 (10%),  $p=0,013$ ].

**Conclusioni.** Nei pazienti con ATTRwt-CA in terapia con tafamidis per almeno 12 mesi, si è assistito ad un aumento dei valori di TTR e ad una stabilità degli indici di danno cardiaco, della capacità funzionale e della qualità della vita. In seguito al trattamento con tafamidis, si è assistito ad una riduzione dei casi di ospedalizzazione per scompenso cardiaco.



## ABSTRACT

**Introduction.** Transthyretin cardiac amyloidosis (ATTR-CA) is an infiltrative disease in which the transthyretin protein (TTR), following misfolding processes, deposits in the myocardium's interstitium in the form of amyloid fibrils. The pathogenesis may be associated with mutations in the hereditary form (ATTRv-CA) or unclear mechanisms in the wild-type form (ATTRwt-CA), which is more common in older males. The pathogenesis can be associated with mutations in the hereditary form (ATTRv-CA) or with an unclear mechanism in the wild-type form (ATTRwt-CA), which is more common in older males. Tafamidis is a transthyretin stabilizing drug that prevents its degradation and the consequent progression of the condition.

**Purpose of the study.** This study aims to longitudinally evaluate a cohort of patients with ATTRwt-CA treated with tafamidis by examining clinical, biohumoral, electrocardiographic, and echocardiographic parameters at baseline (i.e., before the initiation of therapy) and after 12 months of treatment. Furthermore, the frequency of hospitalizations for heart failure (HF) and cerebrovascular events in these patients was assessed before the introduction of treatment and after 12 months of treatment.

**Materials and Methods.** Retrospective longitudinal observational study on patients diagnosed with ATTRwt-CA who have been receiving tafamidis therapy for at least 12 months, evaluated at the Cardiac Amyloidosis Outpatient Department of the University Hospital of Padua. Clinical and anamnestic data, laboratory (including TTR, troponin, and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP), and instrumental parameters were collected, as well as data related to functional capacity and quality of life (assessed using the six-minute walk test and the Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire, respectively), both at baseline and 12 months from the start of treatment. Finally, hospitalization events for heart failure in the period before the initiation of treatment (from diagnosis to the start of therapy) and in the subsequent 12 months were compared.

**Results.** A total of 39 patients were included, with 37 of them being male (95%), and with a median age of 77 years (74-82). The evaluation of biohumoral parameters did not reveal statistically significant changes in cardiac biomarkers between baseline and values after 12 months of treatment [troponin = 56.0 (30.6-87.0) ng/L vs. 49.5 (31.3-68.0) ng/L,  $p=0.354$ ; NTproBNP = 1469.0 (611.0-3269.0) ng/L vs. 1661.0 (639.0-3238.0) ng/L,  $p=0.275$ ], but a significant increase in serum TTR levels was observed [237.0 (193.0-260.0) mg/L vs. 315.0 (268.0-350.0) mg/L,  $p<0.001$ ]. Regarding parameters of functional capacity and quality of life, no significant variations were recorded in terms of distance covered in the six-minute walking test and total score on the Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire. At 12 months echocardiography showed an increase in interventricular septum thickness [18.0 (15.0-20.0) mm vs. 19.0 (17.5-21.0) mm,  $p=0.049$ ], posterior wall thickness [15.0 (14.0-17.0) mm vs. 17.0 (16.0-19.0) mm,  $p<0.001$ ], and left ventricular mass [307.0 (268.0-378.0) g vs. 331.0 (296.0-432.0) g,  $p=0.010$ ], along with a reduction in left ventricular end-diastolic volume [121.0 (92.0-135.0) ml vs. 100.5 (85.0-119.0) ml,  $p=0.004$ ]. Finally, the analysis of hospitalizations for heart failure showed a reduction in patients who had at least one hospitalization for heart failure between the pre-therapy period and the 12 months of therapy [15 (38%) vs. 4 (10%),  $p=0.013$ ].

**Conclusion.** In patients with ATTRwt-CA treated with tafamidis for at least 12 months, we observed an increase in TTR values and a stability in cardiac damage markers, functional capacity, and quality of life. Following tafamidis treatment, there was a reduction in cases of hospitalizations for heart failure.

## 2. INTRODUZIONE: L'AMILOIDOSI CARDIACA

### 2.1 Definizione

L'amiloidosi è una condizione patologica caratterizzata dalla formazione di fibrille di amiloide e dalla loro successiva precipitazione a livello extracellulare, responsabile della conseguente disfunzione d'organo (1).

Con il termine “amiloide” si intende un gruppo eterogeneo di proteine, le quali, in seguito ad un processo di *misfolding*, assumono una struttura secondaria a  $\beta$ -sheet e si associano tra loro a formare prima proto-filamenti e poi fibrille insolubili e resistenti alla degradazione (2). Queste caratteristiche rendono conto della natura infiltrativa e progressiva della patologia.

Nonostante il coinvolgimento d'organo in un contesto di amiloidosi sia strettamente correlato allo specifico precursore da cui deriva la proteina amiloide, è presente un rilevante overlap nella presentazione clinica tra le varie forme. Gli organi che risultano essere più frequentemente coinvolti sono i reni, il sistema nervoso centrale e periferico, il fegato, il tratto gastrointestinale e il cuore (1).

L'amiloidosi cardiaca (cardiac amyloidosis, CA) si può presentare in varie forme, a loro volta accomunate da un coinvolgimento del muscolo cardiaco a pattern restrittivo, spesso complicato da fenomeni aritmici, disturbi della conduzione e infiltrazione di materiale amiloide a livello valvolare e perivascolare (3).

### 2.2 Classificazione

La classificazione delle amiloidosi le distingue, in base all'eziologia, in forme *localizzate* e in forme *sistemiche*.

Nelle forme *localizzate* il sito di produzione dell'amiloide coincide con l'organo bersaglio del processo di deposizione, in assenza di una disseminazione sistemica. L'esempio più

celebre di amiloidosi localizzata è il morbo di Alzheimer, nel quale il precursore, la proteina precursore dell'amiloide (APP), è una proteina transmembrana caratteristica delle sinapsi neuronali. In seguito ad un clivaggio operato da due idrolasi, APP dà origine a peptidi di dimensioni minori (40 o 42 amminoacidi), che prendono il nome di proteina  $\beta$ -amiloide (A $\beta$ 40 o A $\beta$ 42). Polimeri insolubili di A $\beta$  precipitano a livello extracellulare portando alla formazione di placche senili, responsabili della neurotossicità (4).

Nelle forme *sistemiche* la deposizione della proteina amiloide avviene a livello periferico, causa del successivo danno d'organo. Le forme sistemiche possono essere ulteriormente classificate in amiloidosi *primarie*, in cui l'amiloide è costituita da catene leggere delle immunoglobuline (AL), amiloidosi da *transtiretina wild-type* (ATTRwt), amiloidosi *familiari*, causate da mutazioni che coinvolgono il ripiegamento di determinate proteine, tra cui la transtiretina (ATTRv), e *amiloidosi secondarie*, conseguenti ad una deposizione dell'amiloide sierica A, una proteina di fase acuta (1).

La CA è una patologia miocardica che si caratterizza per l'infiltrazione extracellulare di amiloide a livello del muscolo cardiaco; si presenta principalmente in un contesto di amiloidosi AL o amiloidosi da transtiretina (TTR), sia essa la forma ereditaria o wild-type (5).

La TTR, precedentemente nota come prealbumina in funzione della sua localizzazione elettroforetica, è un trasportatore degli ormoni tiroidei (T4) e della proteina legante il retinolo (RBP). La TTR viene prodotta dal fegato in forma tetramericata e, prima della deposizione sotto forma di amiloide, si dissocia in dimeri e successivamente in monomeri che vengono poi parzialmente denaturati fino alla formazione delle fibrille (6).

L'amiloidosi AL consiste in un disordine ematologico delle plasmacellule, con anormale proliferazione di un clone cellulare e sovrapproduzione di catene leggere lambda o, meno frequentemente, kappa (3). In una percentuale che va dal 10% al 15% dei pazienti con amiloidosi AL si assiste ad una concomitante diagnosi di mieloma multiplo (MM), associazione che rende evidenza della stretta correlazione tra le due patologie (7). Nonostante ciò, si tratta di entità cliniche generalmente distinte, come si può evincere dal riscontro, a livello midollare, di una concentrazione di plasmacellule tendenzialmente inferiore nei pazienti con amiloidosi AL (con una mediana del 12%), rispetto ai pazienti con MM (8).

## 2.3 Epidemiologia

Le caratteristiche epidemiologiche dei pazienti affetti da CA variano in maniera rilevante in funzione di quale sia la proteina amiloide coinvolta.

La ATTRwt, precedentemente nota come “amiloidosi sistemica senile”, colpisce quasi esclusivamente i soggetti giovani anziani e anziani, con un'età media alla diagnosi di 73 anni (9). Nonostante siano rari, sono stati descritti dei casi di pazienti affetti da ATTRwt diagnosticati durante la V e VI decade di vita. Le coorti analizzate nella maggior parte degli studi su ATTRwt sono dominate (>90%) da soggetti caucasici di sesso maschile, con un aumento della prevalenza del sesso femminile nelle diagnosi post-mortem (10). Non è chiaro se la predilezione per sesso ed etnia sia effettivamente conseguente alle caratteristiche della patologia o sia dovuta a bias sconosciuti.

Per quanto riguarda la ATTRv le caratteristiche della popolazione coinvolta dipendono strettamente dalla mutazione che sta alla base del processo patologico. Le varie mutazioni della TTR si posizionano su uno spettro fenotipico (*figura 1*) che va da forme con coinvolgimento puramente neurologico a forme dominate dal coinvolgimento cardiaco, con varie mutazioni con presentazioni intermedie (11). La mutazione più frequente a livello globale risulta essere Val30Met (V30M), più frequentemente associata ad un fenotipo misto o neurologico. Negli Stati Uniti le mutazioni amiloidogeniche più frequenti sono Val122Ile (pV122I), tipica della popolazione afroamericana, nella quale ha una prevalenza del 3,4%, e Thr60Ala (pT80A), caratteristica dell'Irlanda del nord (12,13). Nella popolazione italiana sono presenti 4 principali mutazioni attribuibili ad un coinvolgimento esclusivamente cardiaco in un contesto di ATTRv: Val122Ile, Thr60Ala, Leu111Met e Ile68Leu. L'età media alla diagnosi risulta essere maggiore (70aa) nei pazienti con solo fenotipo cardiaco rispetto ai pazienti con fenotipo misto (53aa) o neurologico (42aa), differenza solo parzialmente attribuibile alla diversa penetranza età-dipendente delle varie mutazioni (11).

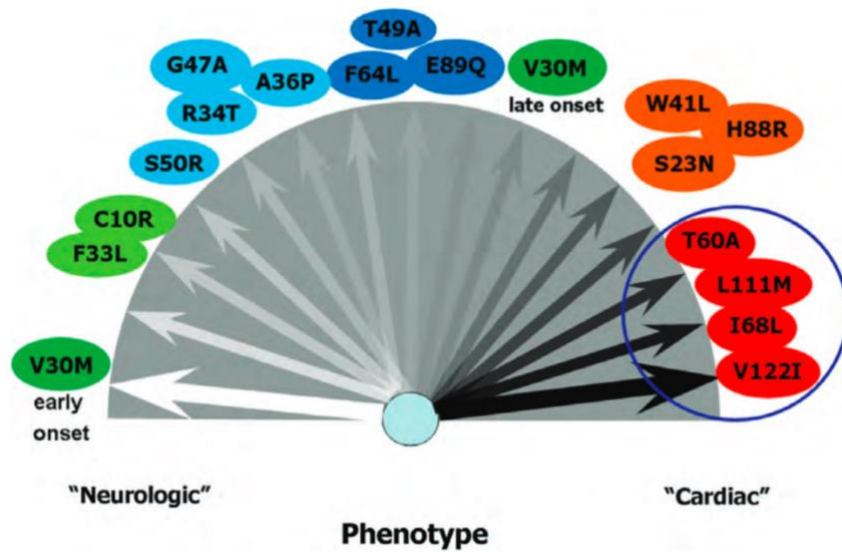


Figura 1: collocazione delle varie mutazioni in ATTRv sullo spettro fenotipico che va da un coinvolgimento puramente neurologico (Val30Met early onset) ad uno cardiologico (Val122Ile, Thr60Ala, Leu111Met e Ile68Leu). Interessante la particolare localizzazione della mutazione Val30Met late onset (11).

L'amiloidosi AL è una patologia rara, con una prevalenza stimata nel 2015 di 40,5 casi per milione di abitanti, in aumento rispetto al dato di 15,5 casi per milione riscontrato nel 2007 (14). L'età media alla diagnosi risulta essere di 63 anni, con una percentuale di pazienti di età superiore a 50 anni pari al 90% (1). Il sesso maschile è maggiormente predisposto allo sviluppo della patologia, con un rapporto M:F di circa 1,4:1 (15).

## 2.4 Fisiopatologia

Come precedentemente accennato, l'amiloidosi è una patologia caratterizzata da un processo multi-step che si instaura dal mal ripiegamento di una singola proteina, fino alla formazione di oligomeri e la loro precipitazione a livello di organi bersaglio. La fibrilla di amiloide presenta una sovra-struttura secondaria a *cross- $\beta$ -sheet* che ne permette la colorazione con Rosso Congo (16). La patogenesi delle amiloidosi è complessa e multifattoriale, e vari possono essere i meccanismi che portano allo sviluppo della proteina amiloide. Nella maggior parte dei casi l'amiloide si forma in seguito ad una eccessiva produzione o ad una digestione proteolitica della proteina amiloidogena, come nel caso delle catene leggere. Alcune delle proteine amiloidogeniche, come la TTR, sono caratterizzate da una

predisposizione intrinseca al ripiegamento anomalo, esacerbato dall'età. Ci sono, infine, delle forme di amiloidosi caratterizzate da mutazioni, ereditarie o acquisite, che alterano la struttura primaria e secondaria delle proteine (17). Ci concentreremo ora sulle principali forme di CA.

La TTR è una proteina omotetramericata dal peso di 55kDa, composta da 4 sub-unità a  $\beta$ -sheet, il cui gene è localizzato sul cromosoma 18q12. Viene prodotta principalmente a livello epatico, e in minor parte a livello del plesso coroideo, e viene rilasciata in circolo con la funzione di trasporto per T4 e RBP. Come già descritto, la conversione di TTR nativa in proteina amiloide è un processo dinamico (*figura 2*) che vede la dissociazione del tetramero in dimeri e, successivamente, in monomeri, i quali sono vittima del processo di mal ripiegamento e formazione di fibrille (18). La dissociazione del tetramero di TTR è la fase limitante del processo amiloidogenico, e avviene più frequentemente in un contesto di debole interfaccia dimero-dimero, conseguente all'assenza di ligando nel sito di legame per T4 (6). Inizialmente si pensava che il processo di accrescimento della fibrilla fosse nucleazione-dipendente, ossia che necessitasse di un "nucleo oligomero" prima che potesse avvenire l'associazione dei monomeri. Si è tuttavia osservato che l'implementazione in vitro di aggregati preformati, che bypassano il processo di nucleazione, non accelera la formazione della fibrilla. Si sospetta che la formazione della fibrilla sia un processo di polimerizzazione a cascata, dipendente, in primo luogo, dalla concentrazione di TTR presente. Tutto ciò sottolinea l'importanza delle terapie di stabilizzazione dei monomeri di TTR (19).

Tra i meccanismi generali precedentemente descritti, la TTR possiede una predisposizione intrinseca al ripiegamento patologico esacerbata dall'età (in un contesto di ATTRwt), ma anche la possibilità di andare incontro a mutazioni che ne influenzino la struttura (in un contesto di ATTRv).

La deposizione delle fibrille a livello extracellulare nel miocardio comporta un danno strutturale che esita in una cardiomiopatia con pattern restrittivo e un disturbo del tessuto di conduzione, con conseguente insufficienza cardiaca.

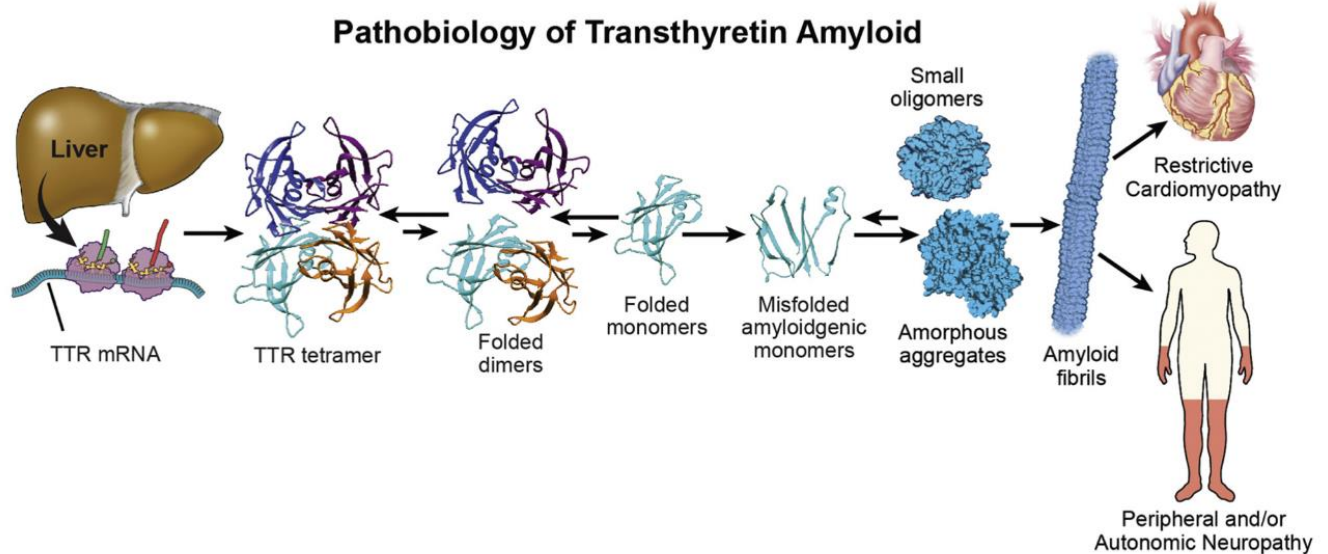


Figura 2: meccanismo fisiopatologico della ATTR, a partire dalla produzione del tetramero a livello epatico fino alla deposizione a livello cardiaco e a livello del sistema nervoso periferico (6).

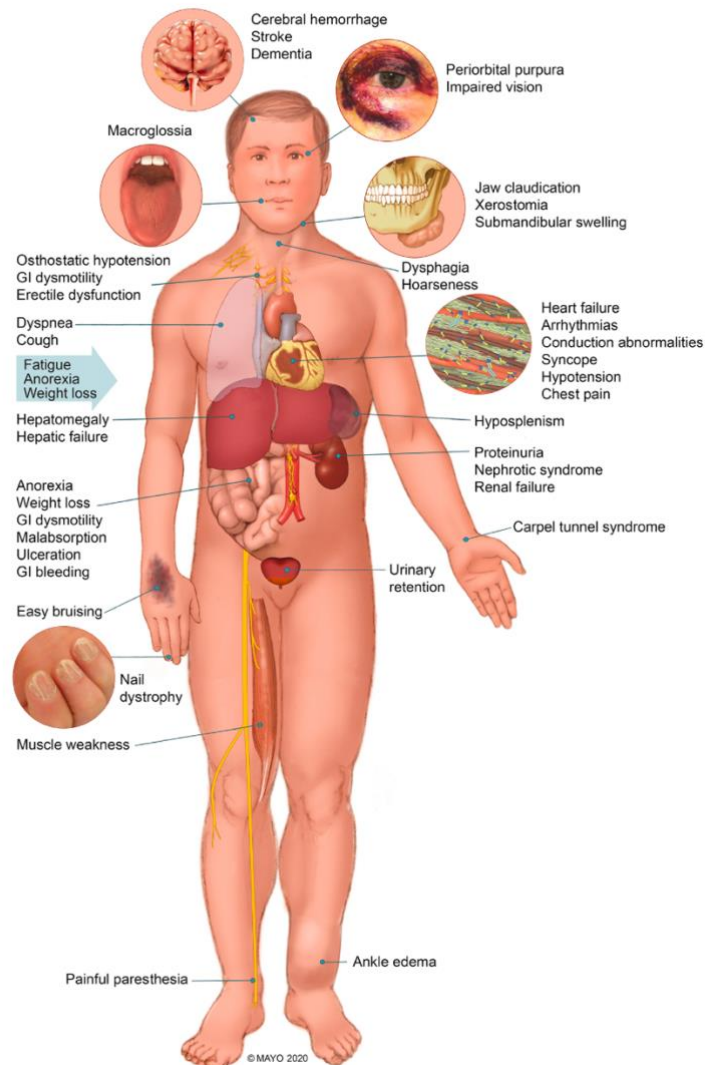
Per quanto riguarda l'amiloidosi AL, l'origine fisiopatologica risiede in una discrasia plasmacellulare, che può presentarsi in maniera isolata o come conseguenza di altri disordini ematologici. Tra questi ultimi ricordiamo il MM e la macroglobulinemia di Waldenström. Nella maggior parte dei casi è possibile discriminare una amiloidosi AL primaria da una secondaria andando ad analizzare il rapporto tra le catene leggere kappa e lambda che vengono prodotte in maniera aberrante: in un contesto di malattia primaria il rapporto tra le due è spostato verso le catene leggere kappa (3:1); al contrario, in una forma secondaria predominano le catene lambda (1:2) (16).

Per quanto riguarda il danno a livello miocardico, l'amiloidosi AL presenta, in comune alla forma da TTR, l'infiltrazione e la conseguente disfunzione restrittiva. In questo caso, tuttavia, a questo danno strutturale si associa una proteotossicità, conseguente a meccanismi come l'attivazione di chinasi o la produzione di specie reattive dell'ossigeno (3). Il riscontro di questa cardiotossicità successiva alla deposizione delle catene leggere permette di spiegare come, a pari grado di infiltrazione, i pazienti con amiloidosi AL presentino una disfunzione del muscolo miocardico più grave rispetto ai pazienti con amiloidosi senile (20).



## 2.5 Clinica

Come già precedentemente accennato, le amiloidosi sistemiche sono patologie con una clinica molto eterogenea (*figura 3*) e, benché dipenda in maniera variabile dalla proteina amiloide coinvolta, con una presentazione parzialmente comune tra le varie forme. Oltre a sintomi sistemici come astenia, e perdita di peso, gli organi principalmente coinvolti sono i reni, il cuore, il sistema nervoso, il fegato, il tratto gastrointestinale, a cui si aggiungono i polmoni, il tessuto muscolare e i tessuti molli (1). Ci concentriamo ora sulle manifestazioni cardiovascolari ed extracardiovascolari della CA.



*Figura 3: eterogeneo coinvolgimento organico in contesto di amiloidosi sistemica. Alcuni precursori amiloidi comportano lo sviluppo di una malattia multiorgano, altri un quadro clinico più circoscritto (1).*

### **2.5.1 Manifestazioni Cardiovascolari**

In un contesto di CA, sia essa amiloidosi da TTR o AL, la deposizione amiloide a livello miocardico comporta delle alterazioni del metabolismo cellulare, della regolazione dei recettori e dei trasportatori di calcio, con conseguente edema cellulare (21). Questo processo di danno strutturale porta inevitabilmente ad un inspessimento e irrigidimento biventricolare, responsabile dello sviluppo della cardiomiopatia restrittiva con disfunzione diastolica (22). La naturale evoluzione della patologia porta il paziente verso uno scompenso cardiaco (SC) a preservata frazione di eiezione (HFpEF), caratterizzato, come suggerisce il nome, da una frazione di eiezione  $\geq 50\%$ , in cui la riduzione della gittata sistolica è dovuta ad una alterazione della funzione diastolica ventricolare e alla diminuzione del volume telediastolico ventricolare (23). Sarà, perciò, comune lo sviluppo dei classici sintomi dello SC come astenia, dispnea da sforzo, ortopnea, dispnea parossistica notturna, distensione addominale e edema agli arti inferiori (22).

Altre manifestazioni cardiovascolari tipiche sono quelle che coinvolgono il tessuto di conduzione. Queste alterazioni possono essere conseguenti alla deposizione di materiale amiloide proprio a livello del tessuto di conduzione specializzato, o ad eventi ischemici localizzati dovuti ad un'infiltrazione microvascolare (24). Le manifestazioni elettrofisiologiche più comuni sono i disturbi del ritmo, come fibrillazione atriale (FA) e bradicardia sintomatica, e blocchi avanzati del tessuto di conduzione (25). Benché la FA risulti essere il disturbo del ritmo più rappresentato, soprattutto in pazienti con ATTRwt, ci sono evidenze indicative dell'assenza di una sua effettiva conseguenza sulla mortalità generale di questi pazienti (26).

Infine, i pazienti affetti da CA possono presentare fenomeni anginosi o veri e propri infarti miocardici, come conseguenza della deposizione di amiloide a livello coronarico (27).

### **2.5.2 Manifestazioni Extracardiovascolari**

Se le manifestazioni cardiache, in relazione alle varie cause di amiloidosi cardiaca, sono relativamente sovrapponibili, lo stesso non si può dire per i segni e sintomi

extracardiovascolari, che possono essere utili strumenti per una corretta diagnosi differenziale.

In un contesto di ATTRwt il cuore è solitamente l'unico organo vitale ad essere clinicamente coinvolto, tuttavia, la sindrome del tunnel carpale (STC) bilaterale e la stenosi spinale lombare possono precedere la comparsa di sintomi cardiaci di 10-15 anni (28).

I tessuti molli sono uno dei siti in cui la proteina amiloide può precipitare, e ciò comporta un rischio di sviluppare neuropatie da intrappolamento, prima fra tutte la STC, conseguente ad una deposizione a livello del retinacolo flessori e del tessuto tenosinoviale. La STC non è, in realtà, una presentazione unicamente osservabile nella ATTRwt, ma la sua prevalenza (50%) è decisamente superiore in questi pazienti rispetto a quelli affetti da amiloidosi AL (25).

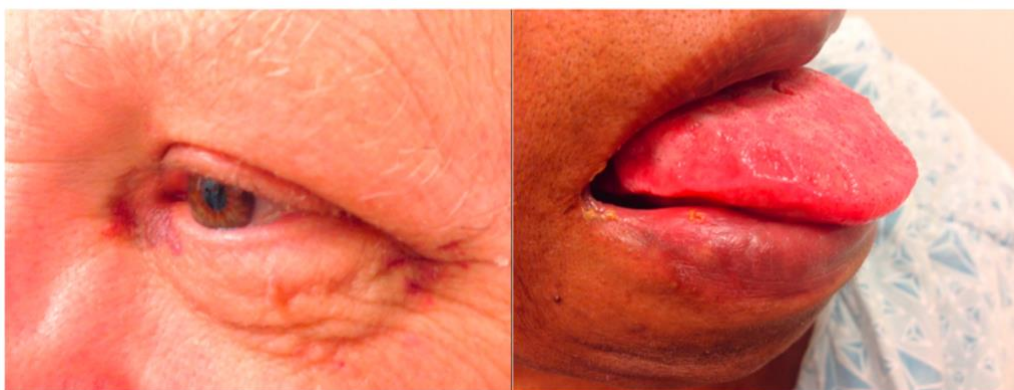
Una manifestazione più specifica per l'amiloidosi sistemica senile è, invece, la stenosi spinale lombare, conseguente alla deposizione di amiloide a livello del legamento flavo e conseguente compressione del canale spinale (29). La prevalenza della stenosi spinale lombare nei pazienti ATTRwt si attesta intorno al 14% e, così come la STC, tende ad aumentare con l'età (30).

Ulteriore manifestazione extracardiaca in un contesto di ATTRwt è la rottura spontanea del tendine distale del bicipite, riportata in circa il 33% dei pazienti (bilateralmente nel 24%) (31).

Come già precedentemente accennato, le varie mutazioni responsabili di ATTRv si posizionano su uno spettro che va da un fenotipo puramente neurologico ad uno cardiologico, con delle situazioni intermedie (11). Nelle forme con coinvolgimento principalmente neurologico (come Val30Met *early-onset*) i pazienti possono presentare una neuropatia periferica ad andamento progressivo ascendente, con una perdita della sensibilità, soprattutto termica e dolorifica, a cui può seguire un coinvolgimento della componente motoria (32). In un contesto di polineuropatia amiloidotica familiare (FAP) è comune un coinvolgimento del sistema autonomico, spesso antecedente alla disfunzione sensorio-motoria. Il paziente può presentare una sintomatologia gastrointestinale (diarrea post-prandiale o grave costipazione), ipotensione ortostatica, disturbi cardiovascolari o del tratto genito-urinario (33). In alcune famiglie è stata riscontrato un coinvolgimento oculare con

opacità vitreale (34). Anche in questi casi è possibile riscontrare STC e stenosi spinale lombare, anche se con frequenza minore.

Tra le varie forme di amiloidosi cardiaca, l'amiloidosi AL è quella che più frequentemente si associa ad un coinvolgimento multiorgano. Il coinvolgimento renale con sindrome nefrosica è il più frequente e, al momento della diagnosi, è presente nei due terzi dei pazienti (35). L'epatomegalia è comune, conseguenza sia della congestione a livello del cuore destro, sia di una deposizione di amiloide a livello epatico (36). Ulteriori alterazioni possono avvenire a livello dei piccoli vasi e dei tessuti molli, mostrandosi con macroglossia (presente in circa il 10% dei pazienti) o porpora periorbitale (*figura 4*) (3). In comune con la ATTRv, l'amiloidosi AL può presentare neuropatia periferica e anamnesi positiva alla diagnosi per STC.



*Figura 4: esempi di porpora periorbitale (a sinistra) e macroglossia con le impronta dentaria (a destra), tipici segni di coinvolgimento dei tessuti molli in amiloidosi AL (3).*

## **2.6 Diagnosi**

### **2.6.1 Sospetto**

Data la spesso eterogenea presentazione dell'amiloidosi cardiaca, è utile considerare quelli che possono essere dei campanelli d'allarme per indirizzare alla diagnosi (*figura 5*).

In un paziente che si presenta con inspessimento del muscolo cardiaco e SC è importante che vengano tenute a mente le manifestazioni cliniche delle varie forme, prestando

particolare attenzione al coinvolgimento extracardiovascolare come in caso di STC, di rottura del capo lungo del bicipite e di stenosi spinale lombare.

Anche dal punto vista cardiaco ci sono una serie di segni che possono fungere da *red flags*, sia per quanto riguarda la presentazione clinica che le indagini ematochimiche e strumentali. Spesso accade che i pazienti affetti da amiloidosi cardiaca vadano incontro ad una risoluzione spontanea di un quadro ipertensivo precedentemente presente, fino alla necessità di diminuire o interrompere la terapia antiipertensiva (6). I bassi voltaggi del QRS (presenti nel 45% dei casi), specialmente se associati all'apparentemente controintuitivo inspessimento delle pareti muscolari, sono un altro indicatore di patologia (37). Dal punto di vista ematochimico è importante valutare una persistente positività per gli indici di miolisi cardiaca (Troponine I e T) in assenza di patologia coronarica, e un eccessivo aumento degli indici di SC (BNP e nt-proBNP) rispetto alla presentazione clinica (38). Sia l'ecografia, con il riscontro di una stenosi aortica *low-flow low-gradient* o un risparmio dello *strain* apicale (*apical sparing*), sia la risonanza magnetica cardiaca, con il tipico pattern subendocardico di *late gadolinium enhancement*, sono strumenti utili per formare un sospetto di amiloidosi cardiaca (39).

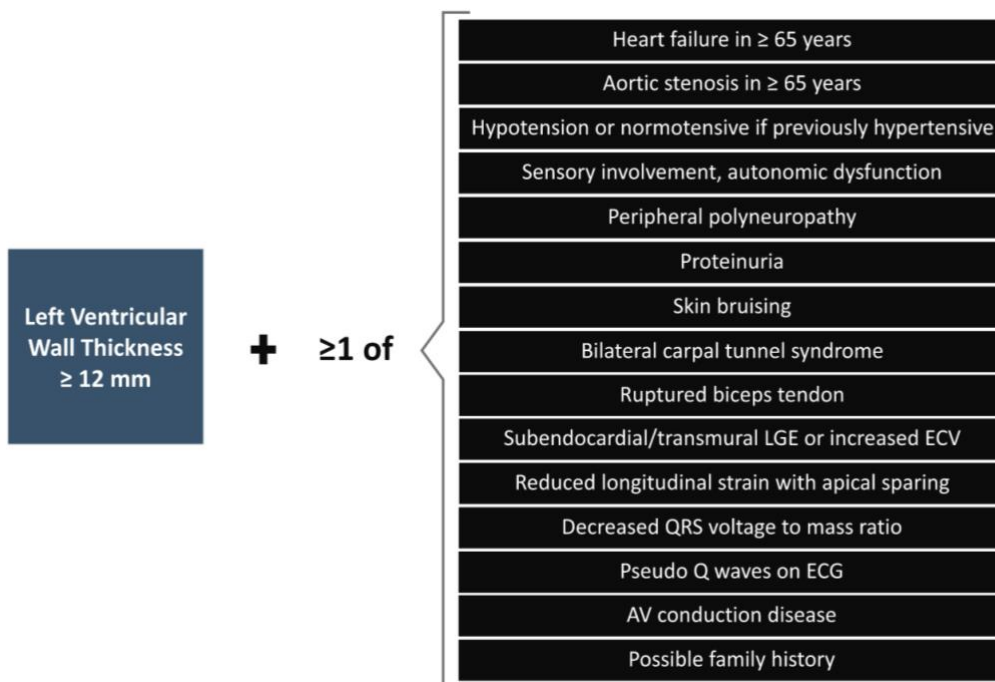


Figura 5: indicazioni di screening per CA in associazione di quadro ecocardiografico compatibile ad almeno un segno o sintomo di sospetto (94).

## 2.6.2 Test di Laboratorio

In un contesto di amiloidosi cardiaca, i test di laboratorio risultano essere un importante strumento per formare un primo sospetto, ma anche per giungere ad una diagnosi, per determinare l'entità del danno e per studiare l'efficacia terapeutica durante il *follow-up*.

### *a. Catene leggere sieriche e urinarie*

La ricerca delle catene leggere libere (FLC) sieriche, associata all'elettroforesi con immunofissazione (IFE) su siero e urine, sono ottimi strumenti nella diagnosi di gammopatia monoclonale e sono fondamentali nella diagnosi differenziale delle varie forme di CA (40). Come già precedentemente accennato, la discrasia plasmacellulare che sta alla base dell'amiloidosi AL comporta un eccessivo rilascio di catene leggere a livello plasmatico. Le catene leggere prodotte possono essere di tipo  $\kappa$  o  $\lambda$ , e presentano una emivita di 2-4 ore prima di essere escrete a livello glomerulare e metabolizzate nel tubulo prossimale. In condizioni normali i livelli di catene leggere urinarie dovrebbero essere minimi (41). Nella valutazione delle FLC sono importanti da considerare il rapporto tra le catene  $\kappa$  e  $\lambda$  (rFLC) e la loro differenza (dFLC), dimostrata un fattore prognostico indipendente nei disordini plasmacellulari (42). L'associazione delle metodiche di ricerca delle FLC  $\kappa/\lambda$  (sensibilità del 76%) e di IFE su siero e urine (sensibilità del 96%) si è dimostrata efficace nella identificazione delle catene leggere amiloidi nella virtuale totalità dei pazienti (43).

### *b. Biomarcatori cardiaci*

I classici marcatori cardiaci come la troponina (sia TnI che TnT) e il peptide natriuretico di tipo B (BNP), così come del suo frammento amino-terminale (NT-proBNP), si sono dimostrati efficaci nella valutazione del coinvolgimento miocardico in un contesto di amiloidosi (40).

I peptidi natriuretici *B-type*, come BNP e proBNP, sono i marcatori più utilizzati, sia in contesto diagnostico che prognostico, nei pazienti con sospetto scompenso cardiaco acuto e cronico (44). È stato dimostrato che la produzione del peptide pre-proBNP può essere conseguente a diversi stimoli, come l'azione di neuro-ormoni (es. angiotensina II e catecolammine), lo stiramento dei cardiomiociti conseguente ad un aumento della pressione

nelle camere cardiache, infiammazione e ipossia (45). Successivi processi di clivaggio intracellulare portano alla formazione di NT-proBNP e BNP attivo. I peptidi natriuretici hanno vari effetti fisiopatologici che inibiscono la progressione dello scompenso cardiaco. Sono infatti coinvolti in processi di vasodilatazione, azione natriuretica, inibizione del sistema renina-angiotensina-aldosterone e contrastano l'ipertrofia cardiaca (46).

L'efficacia dei peptidi natriuretici nella diagnosi di amiloidosi, soprattutto nel sottotipo AL, è stata estensivamente studiata. Uno studio svolto su pazienti affetti da amiloidosi da catene leggere sono stati riscontrati livelli di NT-proBNP sempre superiori al 97,5° percentile nei pazienti con evidenze cliniche ed ecocardiografiche di patologia cardiaca, con una sensibilità per CA del 100% (47).

In funzione della minor cardiotoxicità della proteina amiloide, i livelli di peptidi natriuretici nei pazienti con ATTR sono inferiori rispetto ai pazienti con amiloidosi AL (48). Uno studio svolto su pazienti affetti da FAP ha osservato che livelli di NT-proBNP superiori a 82 pg/ml sono stati in grado di identificare un coinvolgimento ventricolare sinistro con una sensibilità del 92% e una specificità del 90% (49). È importante tenere in considerazione che i valori di NT-proBNP possono essere soggetti a variazioni importanti in funzione di alterazioni della funzionalità renale e, di conseguenza, è fondamentale utilizzare cut-off maggiori in caso di comorbidità con un'eventuale insufficienza renale cronica (50).

Un altro marcatore cardiaco fondamentale sono le troponine cardiache I e T ad alta sensibilità (hs). Le troponine sono un gruppo di molecole proteiche caratteristiche sia del muscolo scheletrico che del muscolo cardiaco, implicate nella regolazione della contrazione grazie al loro legame con i filamenti di actina del sarcomero. Sebbene un rialzo acuto di troponine plasmatiche sia strettamente associato alla diagnosi di infarto miocardico acuto (IMA), un aumento delle troponine plasmatiche viene spesso individuato in pazienti con scompenso cardiaco (51).

Come precedentemente accennato per i peptidi natriuretici, i livelli di troponine cardiache sono leggermente maggiori nei pazienti affetti da amiloidosi AL rispetto a quelli con ATTR, probabile conseguenza della maggiore citotossicità (52). L'efficacia delle troponine nella diagnosi di amiloidosi AL ha ottenuto risultati discordanti. In uno studio, il loro utilizzo in 63 pazienti con diagnosi già confermata da biopsia non ha portato risultati soddisfacenti (53);

in un'altra coorte di 114 pazienti, invece, hs-cTnT ha presentato una buona performance diagnostica, con una sensibilità del 84% e una specificità del 87% (54).

In modo simile, anche per quanto riguarda i pazienti affetti da ATTRv sono stati riscontrati risultati contrastanti sull'efficacia delle troponine. Uno studio svolto su pazienti affetti da FAP non ha riscontrato alcuna correlazione significativa tra i livelli di troponine e il coinvolgimento cardiaco valutato all'ecografia (55); risultati contrastanti sono stati ottenuti da un altro studio, in cui le TnT sono state utili per identificare i pazienti con CA con una sensibilità del 54% e una specificità del 100% (49).

### *c. Prealbumina e proteina legante il retinolo*

La transtiretina, precedentemente chiamata prealbumina in funzione della sua posizione elettroforetica, è una proteina omotetramericata composta da 4 subunità di 127 aminoacidi. È una proteina prodotta per la maggior parte a livello epatico, con solo una piccola parte sintetizzata a livello dei plessi coroidei, ed ha un'emivita plasmatica di 1,9 giorni (56). La sua azione principale consiste nel trasporto degli ormoni tiroidei e del RBP. I valori fisiologici di prealbumina si attestano intorno a 0.20–0.45 mg/dL, e possono aumentare in seguito a condizioni patologiche come l'insufficienza renale cronica, o trattamenti farmacologici con antiinfiammatori o contraccettivi orali. Una riduzione dei livelli di prealbumina può essere conseguente a fenomeni infiammatori, insufficienza epatica o ipertiroidismo (57).

Riguardo all'utilità diagnostica della TTR sierica, uno studio effettuato su una coorte svedese ha confermato una riduzione dei livelli di prealbumina nei pazienti presentati la mutazione Val30Met, anche prima dell'insorgenza dei sintomi, con un ulteriore calo in seguito all'onset della patologia. Questa riduzione dei livelli plasmatici è probabilmente correlata ad una maggiore affinità della proteina mutata per i tessuti, ma potrebbe essere conseguenza di una risposta degli epatociti alla proteina mal ripiegata, con una successiva riduzione della produzione epatica (58).

L'utilizzo della prealbumina a livello diagnostico sembra meno promettente per pazienti affetti da ATTRwt, in cui uno studio non ha riscontrato differenze significative tra pazienti con amiloidosi cardiaca senile clinicamente significativa e controlli con scompenso cardiaco congestizio causato da un'altra forma di amiloidosi sistemica non TTR mediata (59).



Nonostante ciò, oltre ad essere un potenziale strumento diagnostico per ATTRv, vedremo come la prealbumina sembra essere utile nella stratificazione del rischio e nella valutazione della risposta terapeutica di entrambe le forme di ATTR.

La RBP è una proteina prodotta a livello epatico con la funzione di trasportare il retinolo, per essere poi escreta a livello renale. Come già accennato in precedenza, il suo legame comporta la stabilizzazione del tetramero di TTR, riducendone la degradazione in monomeri, fase fondamentale nella patogenesi della patologia (18).

Si ritiene che l'eventuale presenza di mutazioni della TTR, e la sua successiva dissociazione, si associ ad una minore concentrazione in circolo di complessi RBP-TTR e un'aumentata escrezione urinaria di RBP. Questa associazione tra la concentrazione di RBP e il grado di formazione della proteina amiloide è stato riscontrato in uno studio riguardante pazienti con mutazione Val122Ile, in cui un cut-off di 50 µg/mL si è dimostrato efficace nell'identificare i pazienti affetti da ATTRv con una sensibilità del 100% e una specificità del 38% (60).

### **2.6.3 Elettrocardiografia**

L'elettrocardiografia è uno strumento rapido ed economico che può fornire informazioni utili sull'eventuale coinvolgimento del muscolo cardiaco in un paziente con amiloidosi. La presenza delle fibrille di amiloide si associa alla deposizione di materiale completamente silente alle indagini di ECG a livello del miocardio (22).

#### *a. Bassi voltaggi del QRS*

L'evidenza elettrocardiografica più frequente in pazienti con CA è sicuramente una riduzione dei voltaggi a livello delle derivazioni periferiche (54.5% vs 20.7%,  $P < 0.001$ ), seguita da pattern di pseudo-necrosi (40.2% vs 4.6%,  $P < 0.001$ ), e la loro combinazione è dimostrata più frequente (28.0% vs 2.3%,  $P < 0.001$ ) nei pazienti affetti piuttosto che nei controlli (*figura 6*) (61).

La prevalenza della riduzione dei voltaggi, classicamente definita da un'ampiezza del  $QRS < 5\text{mm}$  nelle derivazioni periferiche, varia considerevolmente tra i pazienti affetti da ATTR e amiloidosi AL, con una maggiore frequenza in questi ultimi (62). Una possibile

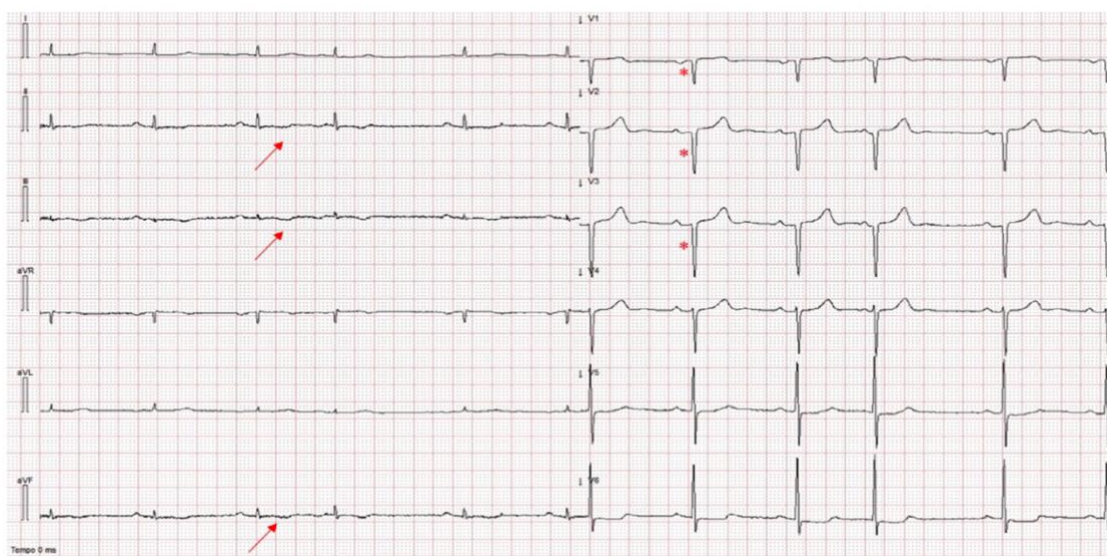
causa di questa variabilità può essere ritrovata nel maggior potenziale citotossico che caratterizza le fibrille amiloidi in un contesto di amiloidosi AL.

*b. Pattern di pseudonecrosi*

Il pattern di pseudonecrosi (*figura 6*) viene definito dalla presenza in due derivazioni consecutive di onde Q o complessi QS patologici, in assenza di precedente riscontro di infarto miocardico e blocco di branca sinistro (63). La prevalenza di questa alterazione nei pazienti con CA si attesta intorno al 70%, senza distinzioni tra le varie eziologie. Uno studio su una coorte di pazienti con amiloidosi AL ha riscontrato un'associazione della presenza di pseudonecrosi a una peggiore performance agli indici funzionali ecocardiografici (es. maggior rapporto E/A e minor ragione di eiezione), ai livelli plasmatici di NT-proBNP. La presenza di pseudonecrosi in pazienti con CA da amiloidosi AL corrisponde a un fattore prognostico negativo (64).

La presenza di questi segni, soprattutto se associata a riscontri ecocardiografici di aumento dello spessore della parete posteriore del ventricolo sinistro, è considerata un possibile strumento non invasivo in un contesto diagnostico di CA (65).

tracciato elettrocardiografico di una paziente con amiloidosi AL in cui è possibile vedere i bassi voltaggi a livello delle derivazioni periferiche (freccie) e dei pattern di pseudonecrosi in V1-V3 (asterischi) (67).



*Figura 6: tracciato elettrocardiografico di una paziente con amiloidosi AL in cui è possibile vedere i bassi voltaggi a livello delle derivazioni periferiche (freccie) e dei pattern di pseudonecrosi in V1-V3 (asterischi) (67).*

### *c. Anomalie di conduzione*

Le anomalie del tessuto cardiaco di conduzione sono un altro reperto frequente nei pazienti con CA. La patogenesi di questi disturbi in pazienti affetti da amiloidosi è da ricercarsi primariamente nel riarrangiamento dell'architettura miocardica in seguito alla deposizione delle fibrille e, secondariamente, alla citotossicità della APP (66). Tra le manifestazioni più rappresentate riscontriamo blocchi atrioventricolari di vario grado e malattie del fascio di His-Purkinje, che possono andare da un rallentamento della conduzione fino ad un blocco di branca completo (67).

In uno studio italiano, la prevalenza di blocco AV è risultata del 33% dei pazienti con ATTRwt (significativamente maggiore del 18% dei pazienti con amiloidosi AL), mentre la prevalenza di blocco di branca sinistro è pari al 40% (37).

Le anomalie di conduzione e, in particolare, eventuali blocchi AV sono tra le cause più frequenti di impianto di pacemaker (PM Garcia Pavia 2021 nei pazienti con CA e devono essere oggetto di stretto monitoraggio in modo da agire con misure preventive prima che sopraggiunga un eventuale arresto cardiaco (68).

### *d. Alterazioni della ripolarizzazione ventricolare*

Le alterazioni della ripolarizzazione ventricolare osservabili in un contesto di CA sono principalmente alterazioni del segmento ST-T e inversioni dell'onda T (TWI), tipico segno di cardiomiopatia ipertrofica (67). Il riscontro di un TWI è più frequente in pazienti con coinvolgimento cardiaco in amiloidosi AL piuttosto che in ATTR (69).

### *e. Anomalie del ritmo*

La deposizione di fibrille amiloidi a livello cardiaco, associata alla disfunzione diastolica ventricolare con il conseguente effetto sulle pressioni atriali, comporta un aumentato rischio di andare incontro ad aritmie sopraventricolari (SVAs), con una particolare predisposizione all'insorgenza di FA (~20% dei pazienti) (70). Anche in questo caso, la prevalenza della FA è dipendente dalla variante eziologica della CA, con una frequenza maggiore nelle forme ATTRwt, rispetto a ATTRv e AL (26). Le SVAs, in questi pazienti, sono frequentemente rilevanti dal punto di vista clinico e si associano ad un elevato rischio di complicanze come stroke o embolismo sistemico. A ciò si aggiunge una particolare difficoltà nel trattamento,

dato che farmaci come beta-bloccanti o calcio antagonisti possono essere difficilmente tollerati (71).

Altri fenomeni aritmici riscontrati in pazienti con amiloidosi, anche se meno frequentemente delle SVAs, sono tachicardie giunzionali e ventricolari o battiti ventricolari prematuri (72). Tra queste le tachicardie ventricolari non sostenute (NSVTs) sono tra le più comuni e risultano essere associate maggiormente a fasi più avanzate di scompenso cardiaco (73).

#### **2.6.4 Ecocardiografia**

L'ecocardiografia è uno strumento economico e di rapido utilizzo, che permette di formare un sospetto iniziale, identificando pazienti con una maggiore probabilità di avere una CA e stimolando l'esecuzione di un *workup* diagnostico completo.

Il segno ecocardiografico principale della deposizione di fibrille di amiloide a livello cardiaco è costituito da un ispessimento della parete ventricolare sinistra o biventricolare (>1,2cm), non causato da un'altra condizione come patologie valvolari aortiche o ipertensione arteriosa sistemica (*figura 7*). Questo aumento di volume del muscolo cardiaco viene definito "pseudo-ipertrofia", non essendo dovuto direttamente dai cardiomiociti ma dall'infiltrazione di materiale amorfo (62). L'ispessimento biventricolare si presenta in pattern differenti a secondo dell'eziologia, più frequentemente simmetrico in caso di amiloidosi AL e asimmetrico in ATTR, con un'ipertrofia massimale a livello del setto (74). La pseudo-ipertrofia ha frequentemente la caratteristica aggiuntiva di presentarsi con un aspetto "*granular sparkling*" conseguenza dell'aumentata ecogenicità della proteina amiloide (40).

L'infiltrazione del ventricolo sinistro comporta un'alterazione della capacità di rilassamento dei cardiomiociti, che rapidamente evolve verso una disfunzione diastolica. L'aumento delle pressioni di riempimento ventricolari, valutato attraverso l'aumento del rapporto E/e', comporta una dilatazione atriale (62). Sempre in seguito allo sviluppo della disfunzione

diastolica, versamenti pleurici e pericardici sono relativamente frequenti nei pazienti con CA, soprattutto in un contesto di amiloidosi AL (74).

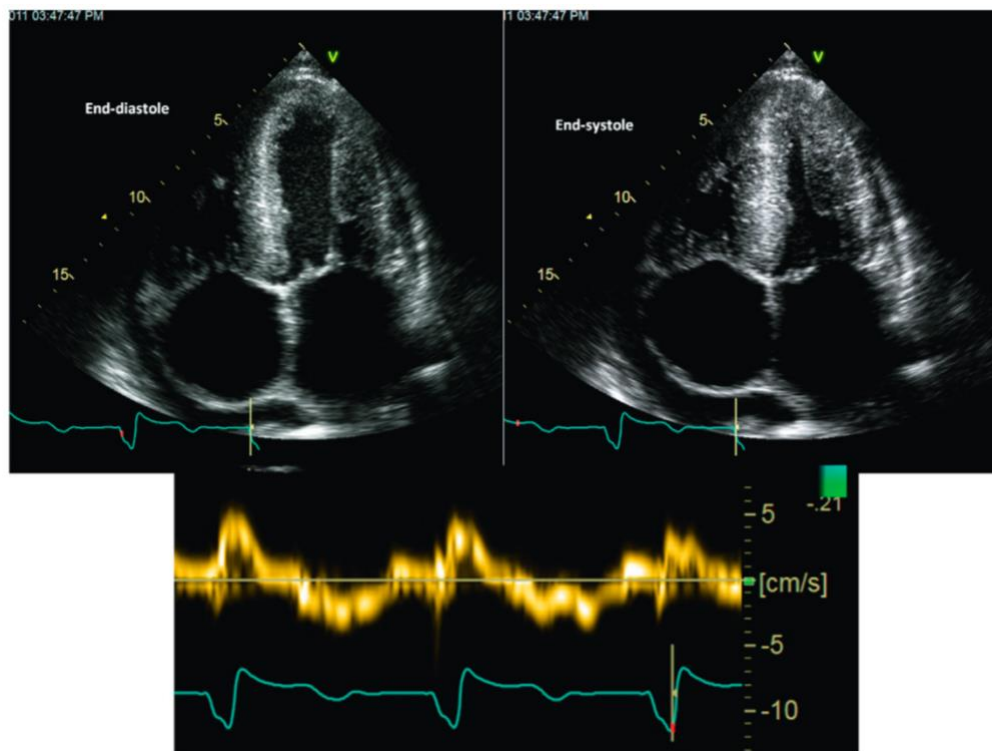


Figura 7:immagini ecocardiografiche in telediastole (in alto a sinistra) e telesistole (in alto a destra) con importante inspessimento del setto interventricolare e aumento delle dimensioni atriali, in presenza di frazione di eiezione conservata. Il doppler tissutale settale (in basso) mostra una riduzione delle velocità longitudinali sistoliche e diastoliche (3).

Grazie ai parametri di “*strain*” e “*strain rate*” (indici di contrattilità miocardica) ottenuti con metodiche Doppler è possibile valutare un ulteriore segno caratteristico ecocardiografico caratteristico di CA. La riduzione dello strain longitudinale sembra, soprattutto nei casi di ATTR, risparmiare la zona apicale, presentandosi con dei pattern di “*apical sparing*” o “risparmio apicale” (figura 8). Questo potrebbe essere un’indicazione di una minore deposizione di amiloide nell’apice rispetto alle basi (75). La presenza di *apical sparing* può risultare utile nel porre un sospetto di CA in un contesto di ipertrofia ventricolare ed è risultato essere un fattore prognostico importante (76).

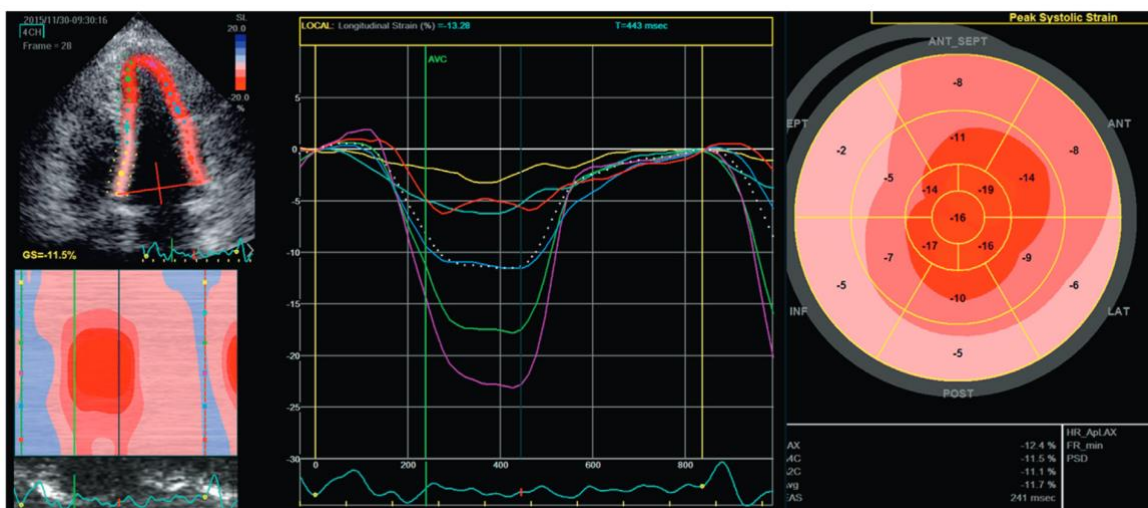


Figura 8: viene mostrata una valutazione dello strain attraverso una colorazione segmentale (sinistra), la quale mostra un risparmio a livello apicale tramite il colore rosso. È presente un grafico bull's-eye (destra) che riporta il chiaro risparmio a livello apicale. Nell'immagine centrale è riportata la deformazione segmentale individuale (3).

La deposizione di amiloide, soprattutto per quanto riguarda la TTR, può presentarsi anche a livello delle valvole comportandone un ispessimento, tipico nelle fasi più avanzate della malattia (40). Abbiamo già accennato in precedenza come una stenosi aortica *low-flow low-gradient* possa essere un campanello d'allarme, essendo presente nel 29% dei pazienti con ATTR-CA e ridotta FE, una percentuale 3 volte maggiore rispetto ai controlli (77).

## 2.6.5 Risonanza magnetica cardiaca

La risonanza magnetica cardiaca (CMR) utilizza un magnete superconduttore sincronizzato al ciclo cardiaco (*ECG gating*) per studiare le caratteristiche macroscopiche e microscopiche del tessuto miocardico, oltre che alterazioni extracardiache (78). Nonostante richieda risorse economiche maggiori e un maggior consumo di tempo rispetto all'ecocardiografia, la CMR è considerata un'indagine altamente sensibile e specifica per la diagnosi di ATTR e di amiloidosi AL.

### a. Anatomia macroscopica

I reperti macroscopici riscontrati alla CMR sono compatibili con quelli evidenziati all'ecocardiografia, mostrando un'elevata incidenza del pattern di ipertrofia asimmetrica

settale nei pazienti con ATTR rispetto ad AL (79% vs. 14%), in cui risulta prevalente un rimodellamento simmetrico concentrico (14%) (79).

Un coinvolgimento extracardiaco, tipico delle fasi avanzate di CA, si può manifestare con versamenti pleurici e pericardici, particolarmente indicativi di amiloidosi se associati ad una normale FE. Un eventuale coinvolgimento epatosplenico è riscontrabile soprattutto in pazienti con amiloidosi AL (78).

#### *b. Caratteristiche tissutali*

Il vero vantaggio della CMR rispetto agli ultrasuoni risiede nelle informazioni reperibili riguardo alle caratteristiche tissutali di composizione del miocardio, valutando il muscolo sia senza (T1 nativo) che con contrasto (*late gadolinium enhancement*).

La CMR con *late gadolinium enhancement* (figura 9) si basa sull'utilizzo di un tracciante biologicamente inerte, il chelato di gadolinio, che si distribuisce liberamente a livello interstiziale, incapace di oltrepassare la membrana cellulare. In condizioni di espansione extracellulare, in funzione dell'aumento di volume e dell'alterazione della cinetica di *washout*, si assiste ad un accumulo relativo di gadolinio rispetto al miocardio sano. Questo accumulo viene valutato nella fase tardiva di *washout* (80).

La pseudo-ipertrofia conseguente alla deposizione di amiloide si associa frequentemente a LGE, il quale ha dimostrato una sensibilità dell'80% e una specificità del 94% nel riscontro di coinvolgimento cardiaco in un contesto di amiloidosi (81).

Nonostante la CMR con LGE non sia sufficiente a discriminare i vari sottotipi di amiloidosi, più di uno studio ha descritto una differenza importante nella frequenza dei due principali pattern di LGE in pazienti ATTR e AL. Un accumulo di gadolinio a livello subendocardico è più spesso associato a quadri di amiloidosi AL (39% in AL vs. 24% in ATTR), mentre una distribuzione transmurale è tipica di ATTR (27% in AL vs. 63% in ATTR) (79,82).

La CMR con un aumento del LGE si è dimostrata un importante predittore di mortalità (83).

La mappatura di T1 in assenza di contrasto, valutazione quantitativa del segnale miocardico in CMR, rappresenta un altro strumento di valutazione delle alterazioni tissutali in CA (figura 9). Un aumento del T1 nativo è registrabile in pazienti affetti da CA, sia in caso di ATTR

che amiloidosi AL, anche in relazione a pazienti affetti da cardiomiopatia ipertrofica (HCM) (84,85).

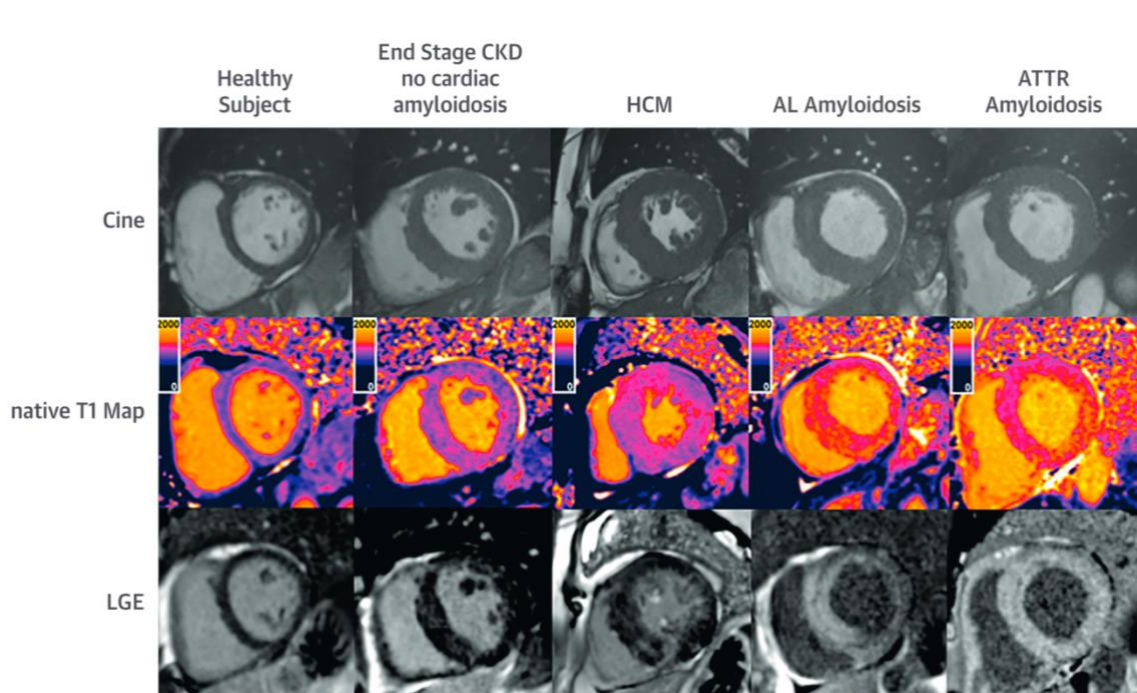


Figura 9: immagini di CineRM (in alto), mappatura T1 nativo (medio) e late gadolinium enhancement (in basso) in (da sinistra a destra) soggetti sani, con CKD, con cardiomiopatia ipertrofica, con amiloidosi AL e con ATTR (85).

### 2.6.6 Scintigrafia con tracciante osseo

L'utilizzo di metodiche di diagnostica nucleare, basate sulla somministrazione endovenosa di radiofarmaci, è fondamentale per la diagnosi di CA. Traccianti ossei, come  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD, hanno dimostrato un'elevata affinità per le fibrille amiloidi di TTR nel tessuto miocardico, possibile conseguenza della concentrazione aumentata di calcio nei siti di deposizione (86). In uno studio svolto da Perugini et al. nel 2005 l'*uptake* selettivo di  $^{99m}\text{Tc}$ -DPD ha dimostrato un'accuratezza del 100% nella differenziazione tra amiloidosi AL e ATTR (87). Lo sviluppo di queste evidenze ha permesso di considerare una diagnosi precoce per ATTR-CA associando una scintigrafia con tracciante osseo positiva ad un'assenza di componente monoclonale ematologica, evitando la necessità di indagini invasive come biopsie endomiocardiche o extracardiache (88).

La positività alla scintigrafia ossea può essere valutata tramite uno score qualitativo, con un approccio visivo, o con una valutazione semi-quantitativa (figura 10).



Lo score qualitativo si basa sull'attribuzione del punteggio di Perugini, il quale mette in rapporto la captazione cardiaca a quella ossea a livello delle coste (87):

- Grado 0 = assenza di captazione miocardica;
- Grado 1 = captazione miocardica inferiore rispetto alle coste;
- Grado 2 = captazione miocardica paragonabile alle coste;
- Grado 3 = captazione miocardica maggiore rispetto alle coste.

La valutazione semi-quantitativa si basa sul rapporto H/CL, ossia il rapporto tra la captazione di contrasto osseo a livello cardiaco e a livello di una porzione di uguale estensione a livello del torace controlaterale. In questo caso la positività viene indicata da un rapporto H/CL  $\geq$  1,5 in seguito ad 1 ora di incubazione (88).

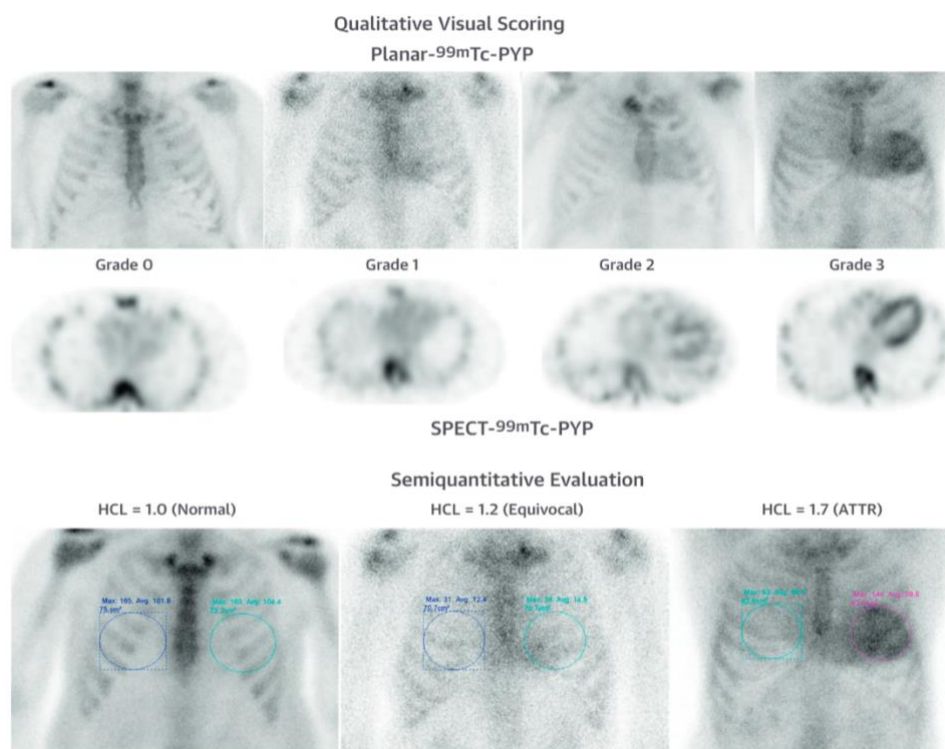


Figura 10: valutazione qualitativa (in alto) e semi-quantitativa (in basso) della captazione di tracciante osseo durante scintigrafia in pazienti con CA (88).

La diagnosi di ATTR può essere raggiunta in pazienti affetti da scompenso cardiaco con caratteristiche all'ecocardiografia o alla CMR compatibili o suggestive di amiloidosi, in presenza di captazione di grado 2 o 3 e in assenza di riscontro di proteine monoclonali all'IFE su siero, su urine o riscontro di sFLC. Si è giunti a questa conclusione in seguito ad un

importante studio su 1217 pazienti, il quale ha riscontrato una specificità del 100% per questo algoritmo di diagnosi precoce (89).

### **2.6.7 Biopsia**

La biopsia con valutazione istopatologica e riscontro di aggregati amorfi di fibrille di amiloide rimane il *gold standard* diagnostico. Nonostante il riscontro, in un paziente con presentazione all'ecocardiografia compatibile per CA, di una discrasia plasmacellulare sia fortemente suggestiva di amiloidosi AL, è necessario confermare la diagnosi con una biopsia tissutale del grasso periombelicale, del cuore o di un altro organo coinvolto (3). È infatti fondamentale discriminare i pazienti in cui l'amiloidosi è direttamente causata dalla componente monoclonale dai pazienti affetti da ATTRwt con incidentale gammopatia monoclonale di significato incerto (MGUS); la presenza di una discrasia plasmacellulare è riscontrabile in ~24% dei pazienti con amiloidosi cardiaca senile (9).

Il primo step nella valutazione istopatologica dell'amiloidosi consiste nell'identificazione o sospetto di depositi amiloidi con una classica colorazione ematossilina-eosina; segue l'utilizzo della più specifica colorazione Rosso Congo, la quale mostra la birifrangenza caratteristica delle fibrille esposte a luce polarizzata (90). L'identificazione del particolare precursore amiloide causa della patologia viene svolta con la metodica gold standard di spettroscopia di massa tandem, associata a microdissezione laser; un'indagine immunocitochimica può essere svolta in centri con elevata esperienza (91).

Dal momento che la deposizione di amiloide può coinvolgere qualsiasi tessuto, lo svolgimento di una biopsia a livello del grasso periombelicale (GPO) rappresenta sicuramente un'alternativa meno invasiva e meno costosa alla biopsia cardiaca. La sensibilità di questa metodica raggiunge il 79% nei pazienti con amiloidosi AL, valore paragonabile a biopsie più invasive come quella delle ghiandole salivari (81-89%), mentre non risulta sufficiente in ATTR (12%) (92).

La biopsia endomiocardica trova ancora utilizzo in caso di mancata disponibilità di scintigrafia ossea o in casi particolarmente complessi, come la presenza di evidenze non

dirimenti all'imaging in pazienti con riscontro di discrasia plasmacellulare o per differenziare un'amiloidosi AL da una ATTRwt con sottostante MGUS (93). La biopsia endomiocardica ha una sensibilità di ~100% (94) e può comportare il riscontro di due pattern principali: un pattern pericellulare, con una disposizione dell'amiloide intorno a singoli cardiomiociti, o nodulare, in cui la presenza di aggregati può distorcere l'architettura cellulare (90).

### 2.6.8 Algoritmo diagnostico

L'introduzione di un algoritmo diagnostico ha semplificato la diagnosi di CA, determinando quello che deve essere l'approccio al paziente con possibile amiloidosi (*figura 11*).

L'iniziale sospetto deve essere caratterizzato dalla presenza di quelli che abbia già precedentemente descritto come segni e sintomi *red flags*, i quali possono avere un'origine clinica (storia di STC bilaterale, stenosi spinale lombare o rottura del tendine distale del bicipite), laboratoristica (positività per BNP non proporzionale alle clinica o positività persistente per troponine in assenza di sindrome coronarica acuta) o strumentale (ispessimento parietale del ventricolo sinistro con bassi voltaggi paradossi, HFpEF, stenosi aortica *low-flow low-gradient*, pattern di *apical sparing* o segni sospetti alla CMR) (6).

Deve, quindi, essere ricercata la presenza di componente monoclonale grazie alla valutazione di rFLC e l'elettroforesi con immunofissazione su siero e urine.

In caso di riscontro di una componente monoclonale il paziente viene riferito all'ematologia con l'indicazione di una biopsia su GPO o su organo coinvolto, sulla quale deve essere svolta la colorazione Rosso Congo e l'identificazione del precursore tramite spettroscopia di massa o immunoistochimica.

In assenza di componente monoclonale si procede con lo svolgimento di scintigrafia con tracciante osseo che, se positiva, indica lo svolgimento di un test genetico per completamento diagnostico e diagnosi differenziale tra ATTRv e ATTRwt.

Se la scintigrafia ossea non dovesse essere accessibile, il raggiungimento della diagnosi potrebbe avvenire solo in seguito ad una biopsia endomiocardica con colorazione Rosso Congo e identificazione del precursore.

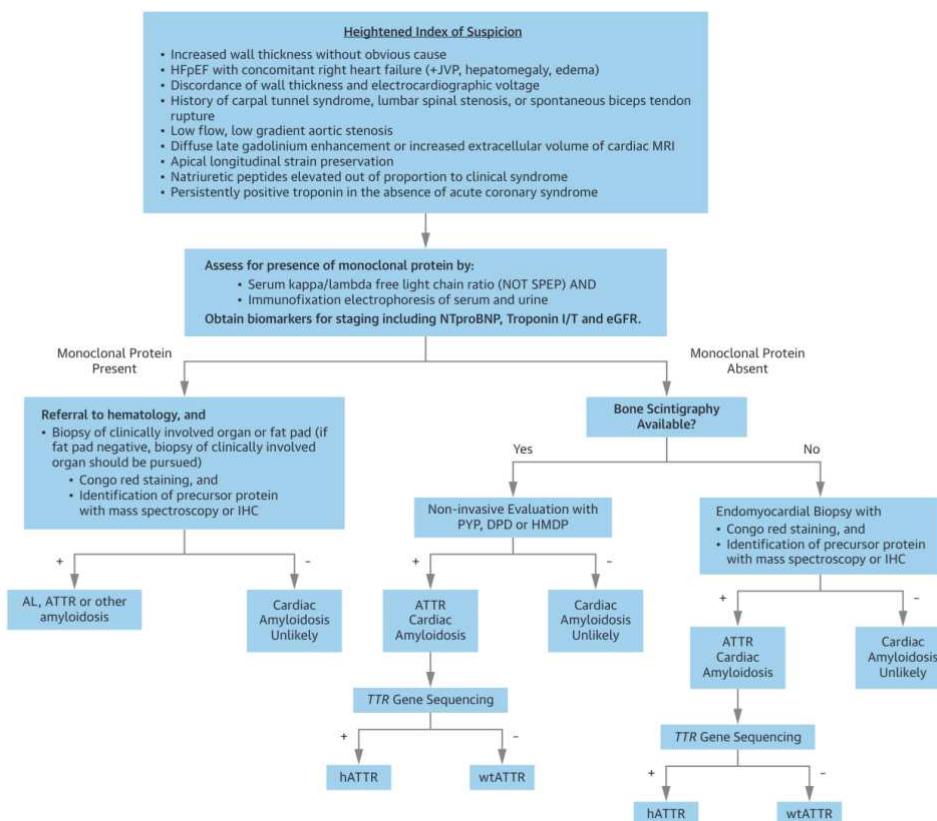


Figura 11: algoritmo diagnostico che prevede la possibilità di diagnosticare ATTR senza la necessità di una biopsia purché sia stata esclusa l'amiloidosi AL e vi sia una scintigrafia con tracciante osseo positiva (6).

## 2.7 Prognosi

In seguito al raggiungimento di una diagnosi risulta fondamentale, ai fini dell'identificazione della giusta linea terapeutica, valutare la prognosi del paziente, dipendente, in primo luogo, dalla tipologia di CA presente.

### a. Amiloidosi AL

L'outcome in pazienti con amiloidi AL è fortemente influenzato dal grado di coinvolgimento d'organo, in particolare a livello cardiaco: la sopravvivenza media alla diagnosi in caso di amiloidosi AL è di 24 mesi, ma è limitata a 6 mesi se il paziente si presenta con SC (95).

In funzione di ciò, nel 2004 il gruppo Mayo Clinic ha sviluppato uno score prognostico (MAYO2004) basato sui marcatori di danno cardiaco come NT-proBNP e TnT o TnI cardiaca. Viene valutata la presenza di valori elevati di questi marcatori secondo dei *threshold* di NT-proBNP < 332 ng/L, TnT < 0,035 µg/l e TnI < 0,1 µg/l, e in base alla positività per nessuno, uno o entrambi i pazienti vengono rispettivamente classificati in stadio I, II o III. Nello stadio I la sopravvivenza media alla diagnosi è di 26,4 mesi, nello stadio II di 10,5 mesi e nello stadio III di 3,5 mesi (96).

Evidenze successive hanno dimostrato l'importante valore prognostico della valutazione di dFLC (97), parametro che fu quindi incorporato nello score prognostico del Mayo Clinic Group nel 2012 (MAYO2012). Vennero, in questo contesto, aggiornati i *threshold* (NT-ProBNP < 1,800 pg/mL, TnT < 0.025 ng/mL e dFLC < 18 mg/dL) e aggiunta una classe di rischio, in modo da dividere i pazienti in stadio I, II, III e IV, con sopravvivenze medie alla diagnosi rispettivamente di 94.1, 40.3, 14, e 5.8 mesi (98).

#### b. ATTR

La sopravvivenza media alla diagnosi in pazienti affetti da ATTRwt-CA non trattati si attesta intorno a 3,5 anni, leggermente migliore di quella riscontrata per ATTRv-CA, compresa tra 2,5 e 3,5 anni (6).

Anche in questo caso NT-proBNP, associato alla funzionalità renale tramite calcolo dell'*Estimated Glomerular Filtration Rate* (eGFR), è stato sfruttato in uno score prognostico, il NAC (National Amyloidosis Centre ATTR staging system), presentato da Gillmore et al. nel 2017. Lo stadio I viene definito dal riscontro di NT-proBNP ≤ 3000 ng/L e eGFR ≥ 45 ml/min, lo stadio III da NT-proBNP >3000 ng/L e eGFR <45 ml/min, mentre lo stadio II comprende tutti i rimanenti pazienti. La sopravvivenza media alla diagnosi negli stadi I, II e III è progressivamente di 69,2, 67,7 e 24,1 mesi (99).

## 2.8 Follow-Up

Il follow up in pazienti affetti da amiloidosi cardiaca, nonostante non ancora completamente definito, si struttura con un controllo elettrocardiografico ed ematochimico (con NT-proBNP e troponine) ogni 6 mesi, associata ad un controllo Holter ECG a 24 ore con frequenza annuale (95).

### a. Biomarcatori cardiaci

Interessante, in particolare per gli scopi di questa tesi, è l'utilizzo dei peptidi natriuretici per la valutazione della risposta alla terapia. NT-proBNP, soprattutto se associato al parametro di FLCs, è considerato un ottimo strumento nel monitoraggio del danno d'organo e della risposta ematologica nei pazienti affetti da amiloidosi AL (48). Solo recentemente una terapia farmacologica è stata introdotta come alternativa al trapianto di fegato nei pazienti affetti da ATTR. Questi farmaci vengono classificati, in funzione del meccanismo d'azione, in farmaci silenziatori il gene della TTR, farmaci stabilizzatori la TTR e farmaci coinvolti nella rimozione delle fibrille. Studi riguardanti Tafamidis, una molecola stabilizzatrice la TTR, hanno riscontrato un rallentamento dell'aumento di NT-proBNP nei pazienti trattati rispetto al controllo (100,101), con un effetto maggiore nel caso di un trattamento più incisivo (Tafamidis 80mg vs 20mg) (102). In un caso è stato possibile assistere ad una riduzione dei livelli plasmatici di NT-proBNP, rispetto all'aumento registrato nei pazienti non trattati (103).

Lo studio delle troponine cardiache si è dimostrato utile nella valutazione della risposta al trattamento in pazienti da amiloidosi AL; in uno studio con una coorte di 816 pazienti è stato osservato che un aumento del 33% in TnT e TnI si associa ad un *outcome* negativo (104).

Anche in questo caso il trattamento con Tafamidis è risultato efficace nell'indurre la riduzione delle troponine, indicando la possibilità che il trattamento con questo farmaco non comporti solo una riduzione dell'infiltrazione della proteina amiloide, ma ne riduca anche la citotossicità (100).

### b. Transtiretina

Come già precedentemente descritto, la transtiretina è la proteina a produzione epatica la cui degradazione in monomeri e successiva precipitazione periferica è responsabile dello

sviluppo di ATTR. È intuitivo andare a studiarne l'andamento durante il regime terapeutico, soprattutto con i nuovi farmaci silenziatori e stabilizzatori della TTR come il Tafamidis. Studi svolti a riguardo hanno concluso che durante il trattamento con Tafamidis si assiste ad un significativo aumento della TTR plasmatica sia in pazienti affetti da ATTRv che ATTRwt (in cui si è assistito ad un aumento del 32% a 12 mesi di terapia). Secondo Falk et al. questo aumento potrebbe fornire un'indicazione sull'efficienza della terapia più precisa di un saggio di stabilizzazione in vitro (105,106).

c. Kansas City cardiomyopathy questionair e 6-minutes

Oltre a criteri laboratoristici, un parametro fondamentale da valutare durante il follow-up è la qualità della vita legata alla salute (health-related quality of life – HRQoL), considerando le capacità funzionali dei pazienti con coinvolgimento cardiaco. A questo fine vengono utilizzati due strumenti, rispettivamente il *Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire* (KCCQ) e il *6-minute walking test* (6MWT), accurati nel riflettere l'entità e la direzione di un eventuale evoluzione clinica (107).

Il KCCQ è un questionario auto-somministrato di 23 *items* con lo scopo di quantificare le limitazioni fisiche, i sintomi (per frequenza, gravità e recente evoluzione nel tempo), la qualità della vita, le interazioni sociali e il grado di autosufficienza (108). Viene attribuito un punteggio da 1 a 100, in cui i punteggi più alti corrispondono ad una migliore HRQoL. Questi risultati dividono i pazienti in 4 classi in funzione dello stato di salute: da molto povero a povero (0-24), da povero a discreto (25-49), da discreto a buono (50-74) e da buono a eccellente (75-100). Messa a confronto con la classe più alta, i pazienti con score di 50-74, 25-49 e 0-24 hanno un rischio relativo di morte o ospedalizzazione rispettivamente di 1,5, 2 e 3 volte (109).

La probabilità di riscontrare un miglioramento di 10 punti nel KCCQ in seguito a 30 mesi di terapia con Tafamidis è stata dimostrata essere 2,5 volte quella riscontrata nei pazienti trattati con placebo (110).

Il 6MWT è un test di facile esecuzione e ben tollerato dal paziente che permette di valutare il livello sub-massimale di capacità funzionale di un individuo facendolo camminare su una superficie piana e dura per 6 minuti. È importante valutare la saturazione di O<sub>2</sub> e la frequenza

cardiaca (FC) all'inizio e alla fine dell'esercizio, spiegando al paziente di mantenere un ritmo adatto alla sua condizione e che può rallentare o fermarsi se ne sente il bisogno. Un adulto sano dovrebbe avere un risultato al 6MWT compreso tra 400m e 700m, mentre un risultato inferiore a 300m è stato associato a prognosi sfavorevole in pazienti con SC (111).

La terapia con Tafamidis si è dimostrata efficace nel ridurre il declino della capacità funzionale del paziente al 6MWT rispetto al placebo già a 6 mesi di terapia (101).

## **2.9 Terapia**

La terapia in un contesto di CA si divide in una terapia per la gestione e la prevenzione delle complicanze e in una terapia atta a bloccare o rallentare la deposizione delle fibrille di amiloide, specifica per le varie forme della malattia.

### **2.9.1 Trattamento delle complicanze**

La terapia di supporto in pazienti affetti da CA è particolarmente complessa e deve tenere conto sia dei due aspetti clinici principali, ossia lo SC e le eventuali aritmie, ma anche dei disturbi di conduzione, del rischio di tromboembolismo e della presenza di stenosi aortica severa (95).

#### *a. Gestione dello scompenso cardiaco*

La componente fondamentale della gestione dello scompenso cardiaco in un paziente con CA è una restrizione dell'introito di sodio (< 6 g/die) e l'utilizzo di farmaci diuretici, con lo scopo di ridurre il precarico cardiaco (43). Nel trattamento diuretico, la combinazione di un diuretico dell'ansa (furosemide o torsemide) e di un antagonista del recettore per i mineralcorticoidi (spironolattone o eplerenone), prestando particolare cautela ai pazienti con una riduzione della funzionalità renale o con iperkaliemia (potassio sierico > 5 mmol/L) (23). Essendo pazienti prone a sviluppare ipotensione, la finestra terapeutica per il mantenimento dell'euvolemia e delle corrette pressioni di riempimento è molto stretta e la gestione può essere complessa (112).



L'utilizzo dei classici farmaci antagonisti dei sistemi neurormonali (come  $\beta$ -bloccanti e ACE-inibitori), impiegati in un contesto di scompenso cardiaco con ridotta FE, è frequentemente mal tollerato dal paziente con CA, a causa del rischio di ipotensione e ipotensione ortostatica. I farmaci  $\beta$ -bloccanti sono particolarmente controindicati nei pazienti con una fisiopatologia restrittiva evoluta, condizione in cui la gittata cardiaca è fortemente dipendente dalla FC (113). L'uso dei  $\beta$ -bloccanti deve essere limitato a pazienti con FA o elevata FC non responsiva ad altre misure di controllo del ritmo (23).

I farmaci Ca-antagonisti non-dihidropiridinici (come verapamil e diltiazem) sono controindicati in CA; presentano una forte affinità per le fibrille di amiloide e comportano un rischio di complicare lo scompenso, peggiorare l'ipotensione e causare sincopi (114).

#### *b. Gestione e prevenzione delle aritmie*

La gestione delle aritmie, soprattutto della fibrillazione atriale, è spesso complessa in un paziente con CA in funzione di quella che abbiamo detto essere una stretta finestra di FC ottimale. Sia condizioni di estrema tachicardia che bradicardia possono comportare un pericolo in un contesto di emodinamica restrittiva (6).

Nonostante il successo sul lungo periodo delle terapie ablativo sia ristretto nei pazienti con CA, è ragionevole un iniziale tentativo precoce di cardioversione del paziente con FA, previa esclusione della presenza di trombi in atrio (115). In caso di fallimento alla cardioversione è necessario attuare una terapia di controllo del ritmo con farmaci antiaritmici come l'amiodarone, dimostratosi ben tollerato nei pazienti con CA (3).

Il rischio di trombi intracardiaci, stroke o embolismo sistemico risulta essere particolarmente elevato nei pazienti affetti da CA, probabile conseguenza della ridotta contrattilità atriale, della disfunzione endoteliale e dell'ipercoagulabilità conseguente al deposito amiloide a livello cardiaco (71). È importante considerare l'eventualità di una terapia anticoagulante, soprattutto in presenza di una disfunzione del ritmo (116). Nei pazienti con fibrillazione atriale, la terapia anticoagulante è indicata a prescindere dal rischio tromboembolico (95)

L'impianto di un PM permanente deve essere considerato in condizioni di disfunzione autonoma cardiaca o disturbi progressivi di conduzione, comuni in pazienti con CA (117).

L'utilizzo dei defibrillatori intracardiaci (ICD) è ancora discusso, ma il loro impiego è risultato efficace in un contesto di prevenzione primaria in aritmia ventricolare (118).

### **2.9.2 Disease modifying treatment per amiloidosi da catene leggere**

L'approccio al paziente con amiloidosi AL deve necessariamente essere multidisciplinare, associando alla cardiologia una valutazione oncoematologica per un eventuale trattamento chemioterapico. Sopprimendo il clone plasmacellulare, la chemioterapia ha lo scopo di ridurre i livelli di catene leggere, limitando la deposizione di fibrille e migliorando la sopravvivenza (95).

La chemioterapia nell'amiloidosi AL si basa sulla terapia del MM, che deve essere, tuttavia, adattata in funzione della disfunzione d'organo eventualmente presente, riducendo le dosi dei farmaci e tenendo sotto stretto monitoraggio la risposta ematologica e la funzionalità d'organo (119). L'approccio più comunemente utilizzato in prima linea è un trattamento che combina un agente alchilante (ciclofosfamida), un inibitore del proteasoma (bortezomib) e uno steroide (desametasone), somministrato settimanalmente. Questo schema terapeutico prende il nome di CyBorD ed è stato dimostrato efficace nello stimolare una risposta ematologica nel 60% dei pazienti, con un 23% di risposta completa (120).

Un altro approccio prevede un trattamento con alte dosi di agente alchilante (melfalan) endovena associate ad un trapianto autologo di cellule staminali, associato ad una risposta d'organo nel 48% dei pazienti (121). Si tratta di una terapia molto aggressiva, che comporta una mortalità elevata nei pazienti con elevato coinvolgimento cardiaco. Ad oggi non è più frequentemente utilizzata come prima linea terapeutica e si riserva a soggetti che non hanno risposto ad altre linee terapeutiche (3).

### **2.9.3 Disease modifying treatment per amiloidosi da transtiretina**

Per molti anni l'unico trattamento disponibile per contrastare l'amiloidosi da TTR è stato il trapianto di fegato (organo da cui origina il precursore amiloide) e l'eventuale trapianto di

cuore. Con l'avanzamento della ricerca, oggi le opzioni terapeutiche comprendono farmaci che agiscono bloccando la sintesi proteica di TTR a livello epatico, farmaci stabilizzatori il tetramero di TTR e farmaci che agiscono rimuovendo le fibrille a livello periferico (113).

#### *a. Trapianto d'organo*

Il trapianto di fegato ha la funzione di rimuovere la sede di produzione della TTR mutata in caso di ATTRv, ed è stato dimostrato associarsi ad un aumento della sopravvivenza (tasso di sopravvivenza a 20 anni di 55,3%). Alcuni fattori sono risultati avere un impatto negativo sulla sopravvivenza in seguito a trapianto di fegato: ATTRv con mutazioni non-Val30Met, malnutrizione (basso mBMI al trapianto), esordio tardivo e avanzamento della patologia (122).

La progressione della malattia può, tuttavia, avvenire anche in seguito al trapianto di fegato, probabilmente perché le fibrille di amiloide precedentemente depositate stimolano la precipitazione di TTR *wild type*. Se un paziente viene sottoposto a trapianto cardiaco oltre al trapianto epatico la progressione della patologia non avviene a livello miocardico ma a livello di tutti gli altri organi colpiti (123).

Il trapianto di fegato deve essere valutato unicamente in pazienti affetti da ATTRv (124).

#### *b. Inibitori dell'espressione genica di transtiretina*

Patisiran è una molecola di RNA interferente breve (siRNA) che sfrutta il meccanismo di interferenza dell'RNA per ridurre la produzione di TTR wild-type agendo a livello dell'estremità 3' della regione dell'mRNA della TTR non ancora tradotta, degradandolo (125). Viene somministrato per via endovenosa, incapsulato in nanoparticelle lipidiche per migliorarne la biodisponibilità a livello epatico (126).

Un primo studio ne ha dimostrato la tollerabilità e la capacità di indurre un'effettiva riduzione dei livelli di TTR (riduzione dell'80% con terapia di 0,3 mg/kg ogni 3 settimane) in pazienti con FAP o volontari sani (127). L'efficacia a livello clinico è stata confermata nel trial di fase 3 APOLLO (125) su 225 pazienti affetti da FAP, i quali sono andati incontro ad un netto miglioramento delle condizioni cliniche neurologiche dopo una terapia di 18 mesi con patisiran 0,3 mg/kg ogni 3 settimane. Gli effetti collaterali più frequentemente

registrati sono edemi periferici, reazioni del sito di infusione e alterazioni visive. Potrebbe essere necessaria una supplementazione di vitamina A.

Questi risultati hanno portato all'approvazione dell'utilizzo di patisiran per il trattamento della FAP in pazienti adulti affetti da ATTRv sia in America che in Europa (113).

Il 56% dei pazienti arruolati nello studio APOLLO presentava caratteristiche ecocardiografiche compatibili per CA e, in questo sottogruppo, si è assistito ad una riduzione dell' spessore di parete del ventricolo sinistro e dei valori plasmatici di NT-proBNP (125). L'eventuale approvazione di patisiran per il trattamento di pazienti affetti da ATTR-CA in assenza di polineuropatia è attualmente studiata dal progetto APOLLO-B, i cui dati preliminari sembrano confermare un miglioramento della capacità funzionale e dello stato di salute rispetto al placebo (128).

Inotersen è un oligonucleotide antisense, anch'esso in grado di ridurre la produzione di TTR a livello epatico (129). Nello studio di terzo livello NEURO-TTR (130) la somministrazione sottocutanea di inotersen (300mg, settimanalmente per 12 mesi) in pazienti con FAP ha mostrato una riduzione dei sintomi neurologici e un miglioramento della qualità della vita. Tra gli eventi avversi gravi sono stati riscontrati di glomerulonefrite e severa trombocitopenia, oltre alle più comuni manifestazioni a livello del sito di iniezione e deficit di vitamina A (130).

Il farmaco è attualmente approvato per la terapia di FAP in pazienti con ATTRv senza coinvolgimento cardiaco; tuttavia, uno studio monocentrico ha riscontrato un miglioramento della massa ventricolare sinistra e della tolleranza all'esercizio nei pazienti affetti da CA (131).

### *c. Stabilizzatori della transtiretina*

Tafamidis e tafamidis meglumina (con aggiunta di meglumina che forma un sale) sono delle piccole molecole che, legandosi al sito di legame di T4 della TTR, ne impediscono la dissociazione in monomeri e la conseguente deposizione (113).

Tafamidis è stato il primo farmaco modificante la malattia approvato nel trattamento di pazienti con FAP in fase iniziale in ATTRv, in cui aveva mostrato un rallentamento nel peggioramento delle condizioni neurologiche (132).

Lo studio di fase 3 ATTR-ACT (101) svolto su una coorte di 441 pazienti con ATTRwt-CA e ATTRv-CA ha dimostrato che tafamidis è efficace a ridurre la mortalità per tutte le cause e le ospedalizzazioni per problematiche cardiovascolari. Per questo motivo tafamidis è il primo farmaco modificante la malattia approvato anche per il trattamento della CA in ATTR (figura 12).

Diflunisal, farmaco antinfiammatorio non steroideo (FANS), è stato dimostrato essere in grado di legare e stabilizzare la TTR mutata in caso di ATTRv (133). Sono state riscontrate evidenze della sua efficacia in caso di FAP (134), mentre sembra più discutibile il suo effetto benefico in pazienti con CA (135). Il diflunisal non presenta indicazioni al trattamento di amiloidosi, ma può essere considerato il suo utilizzo *off-label*.

*d. Degradazione e riassorbimento delle fibrille di amiloide*

La doxaciclina, molecola idrofobica facente parte della famiglia delle tetracicline, è stata dimostrata essere in grado di stimolare la disgregazione, e il successivo riassorbimento da parte dei macrofagi tissutali, delle fibrille di amiloide. La somministrazione isolata di doxaciclina in modelli murini non ha comportato un miglioramento dei marcatori di FAP, mentre la sua associazione all'acido tauroursodesossicolico (TUDCA) ha dimostrato un'efficacia maggiore (136). Tale trattamento non viene utilizzato in Italia.

Studi preclinici sono in corso su un'eventuale terapia con un anticorpo monoclonale (PRX004), progettato con un'alta affinità per i depositi di TTR in pazienti con ATTRv (113).

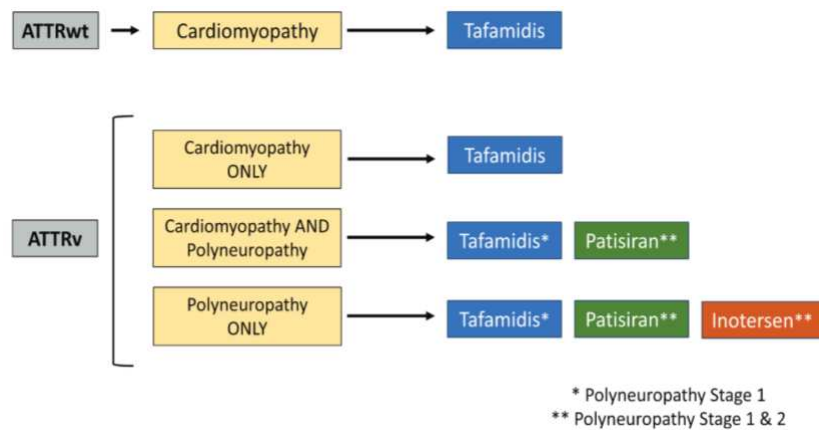


Figura 12: indicazioni terapeutiche dei farmaci disease-modifying per ATTR (95).

## 2.10 TAFAMIDIS: stabilizzatore selettivo della transtiretina

### 2.10.1 Farmacodinamica

La TTR *wild-type* è una proteina omotetramERICA di 127 amminoacidi a subunità  $\beta$ -sheet prodotta principalmente a livello epatico, con la funzione di trasportare T4 e RBP (18). Questa funzione è resa possibile dalla presenza di 4 siti di legame, 2 per T4 e 2 per RBP, posti ortogonalmente gli uni rispetto agli altri, a cavallo tra i due dimeri. I siti di legame per T4 sono caratterizzati da un'associazione dimero-dimero particolarmente debole e una scissione a questo livello corrisponde all'inizio della degradazione della TTR, tappa limitante del processo amiloidogenico (137). L'associazione della TTR ai suoi ligandi ne comporta una stabilizzazione; tuttavia, circa la metà della TTR circola libera a livello plasmatico. È stato dimostrato che tafamidis, legandosi ai siti di legame di T4, sia in caso di TTR *wild-type* che mutata, comporti una stabilizzazione del tetramero, aumentando l'energia necessaria per la sua dissociazione (138). In vitro è stato descritto come tafamidis presenti un'alta affinità per i siti di legame per T4 e, una volta associatosi, comporti la formazione di interazioni ioniche e idrofobiche, le quali fungono da ponte con i dimeri adiacenti, stabilizzando la molecola di TTR e rallentandone la degradazione (139). Il suo funzionamento a livello plasmatico è stato dimostrato tramite uno studio di *subunit exchange*, ossia l'associazione di tetrameri di TTR marcati e tetrameri non marcati e la valutazione dello scambio di subunità, indice di dissociazione (140).

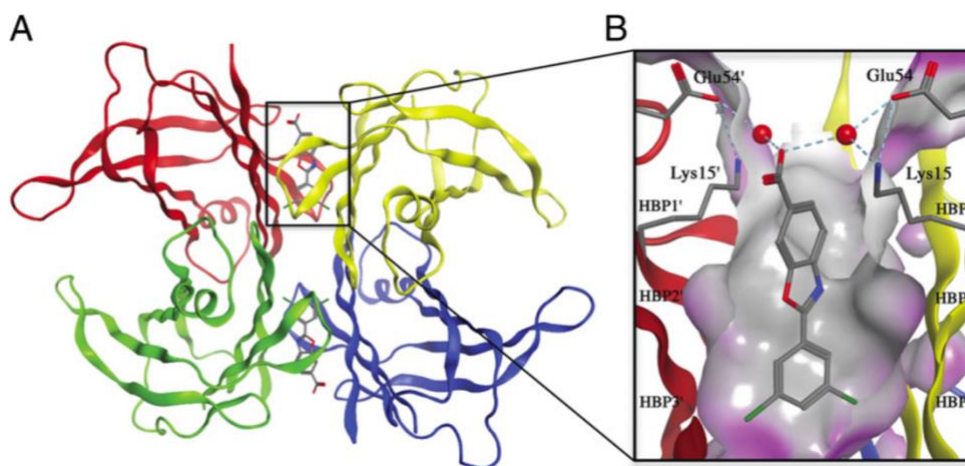


Figura 13: struttura cristallizzata della TTR legata a tafamidis (A); i monomeri sono stati colorati diversamente. (B) Ingrandimento sull'interazione di tafamidis con TTR in uno dei siti di legame di T4 (139).

### 2.10.2 Somministrazione e farmacocinetica

La somministrazione di tafamidis avviene tramite capsule molli disponibili in due preparazioni bioequivalenti:

- Tafamidis meglumina 20 mg;
- Tafamidis 61 mg.

La dose consigliata consiste in 80 mg di tafamidis meglumina (equivalente a 4 capsule da 20 mg) o 61 mg di tafamidis *free acid* una volta al giorno. Il raggiungimento della concentrazione massima a livello plasmatico avviene dopo una mediana di 4 ore dall'assunzione in stato di digiuno. Pasti ricchi di grassi e calorie non comportano un'alterazione dell'assorbimento in termini assoluti, ma ne inficiano la velocità (per questo motivo dovrebbe essere assunto lontano dai pasti) (141).

Tafamidis è fortemente associato a proteine plasmatiche (99,9%) e viene in parte soggetto a metabolismo epatico tramite processi di glucuronidazione (138).

L'eliminazione è lenta, con un'emivita media di circa 59 ore, e un'escrezione principalmente fecale, mentre la porzione di farmaco metabolizzata viene escreta tramite urine in forma di coniugato acil glucuronide (142).

### 2.10.3 Efficacia clinica e indicazioni

Lo studio Fx-005 (132) è stato fondamentale per valutare l'efficacia e la sicurezza di 18 mesi di trattamento con tafamidis in pazienti con FAP in fase iniziale associata a ATTRv (Val30Met). Si tratta di un trial clinico di fase II/III, randomizzato e in doppio cieco, svolto su una popolazione di 128 pazienti di età compresa tra 18 e 75 anni, con documentata mutazione Val30Met, conferma biotipica di deposizione amiloidotica e neuropatia autonoma o periferica.

Come endpoint primari, utilizzati per valutare l'efficacia del trattamento, sono stati utilizzati il *Neuropathy Impairment Score–Lower Limbs* (NIS-LL), uno score che valuta la funzionalità motoria, sensoriale e di riflessi negli arti inferiori, e *Norfolk Quality of Life–Diabetic Neuropathy Questionnaire*, un questionario di 35 items atto a valutare la qualità di vita totale (TQOL). I pazienti trattati sono stati distinti in una popolazione *intent-to-treat* (ITT), ossia tutti i pazienti che hanno ricevuto almeno 1 dose di terapia e sono stati soggetti

ad almeno 1 controllo *postbaseline* per entrambi gli *endpoints* primari o che hanno interrotto la terapia per trapianto di fegato, e una popolazione *efficacy evaluable* (EE), in cui rientrano i pazienti ITT che hanno completato il protocollo.

Nella popolazione ITT si è assistito ad un percentuale maggiore di *responders* secondo i criteri del NIS-LL rispetto al gruppo dei placebo (45.3% vs 29.5%;  $p = 0.068$ ); le differenze tra i due gruppi nella valutazione della TQOL non sono, invece, risultate significative.

Nella popolazione EE un gruppo significativamente maggiore di soggetti sono risultati *responders* per NIS-LL rispetto al placebo (60.0% vs 38.1%;  $p = 0.041$ ); in questo caso vi è stato un importante effetto protettivo nel peggioramento del questionario per la valutazione della TQOL (*figura 14*).

Lo studio conclude che, nonostante non siano stati raggiunti entrambi gli endpoints primari nella popolazione ITT, tafamidis è risultato essere associato ad una riduzione della degenerazione neurologica.

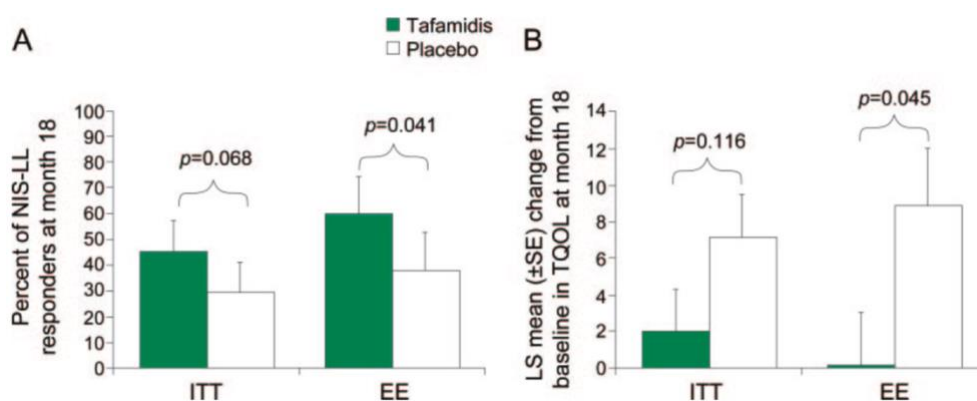


Figura 14: valutazione dell'efficacia di tafamidis in pazienti con FAP secondo l'analisi di NIS-LL (destra) e TQOL (sinistra) nelle due coorti di pazienti ITT e EE (132).

L'efficacia terapeutica di tafamidis nella terapia della cardiomiopatia associata a ATTR è stata valutata successivamente dal *trial* ATTR-ACT (101). Si tratta di uno studio internazionale di fase 3, randomizzato e in doppio cieco, in cui ad una popolazione di 441 soggetti con cardiomiopatia da ATTR (106 con ATTRv e 335 con ATTRwt) viene somministrata una terapia di 30 mesi con tafamidis 80 mg, tafamidis 20 mg o placebo, in un rapporto di 2:1:2.

In questo caso l'analisi primaria andava a valutare un endpoint gerarchico di mortalità per tutte le cause e frequenza dei ricoveri ospedalieri per cause cardiovascolari. Le valutazioni



della funzionalità dei pazienti, studiata tramite il 6MWT e il KCCQ, rientrano negli *endpoints* secondari.

La mortalità per tutte le cause si è dimostrata minore nei pazienti che hanno assunto la terapia rispetto al placebo (29,5% vs. 42,9%), così come il rischio di ospedalizzazione per cause cardiovascolari (RR = 0,68). Si è assistito ad un miglioramento anche per gli *endpoints* secondari, mostrando una riduzione nel declino al 6MWT e nel punteggio al KCCQ.

Va sottolineato come la differenza in termini di mortalità tra i due gruppi di trattamento si sia resa evidente dopo 18-20 mesi di terapia. In aggiunta a tutto ciò, vennero analizzati in maniera esplorativa i livelli di NT-proBNP a 12 e a 30 mesi di trattamento e i parametri ecocardiografici, riscontrando un miglioramento in entrambi in seguito alla terapia.

Tafamidis si è, perciò, dimostrato efficace nel ridurre la mortalità e la progressione del peggioramento della qualità della vita in soggetti con cardiomiopatia da ATTR.

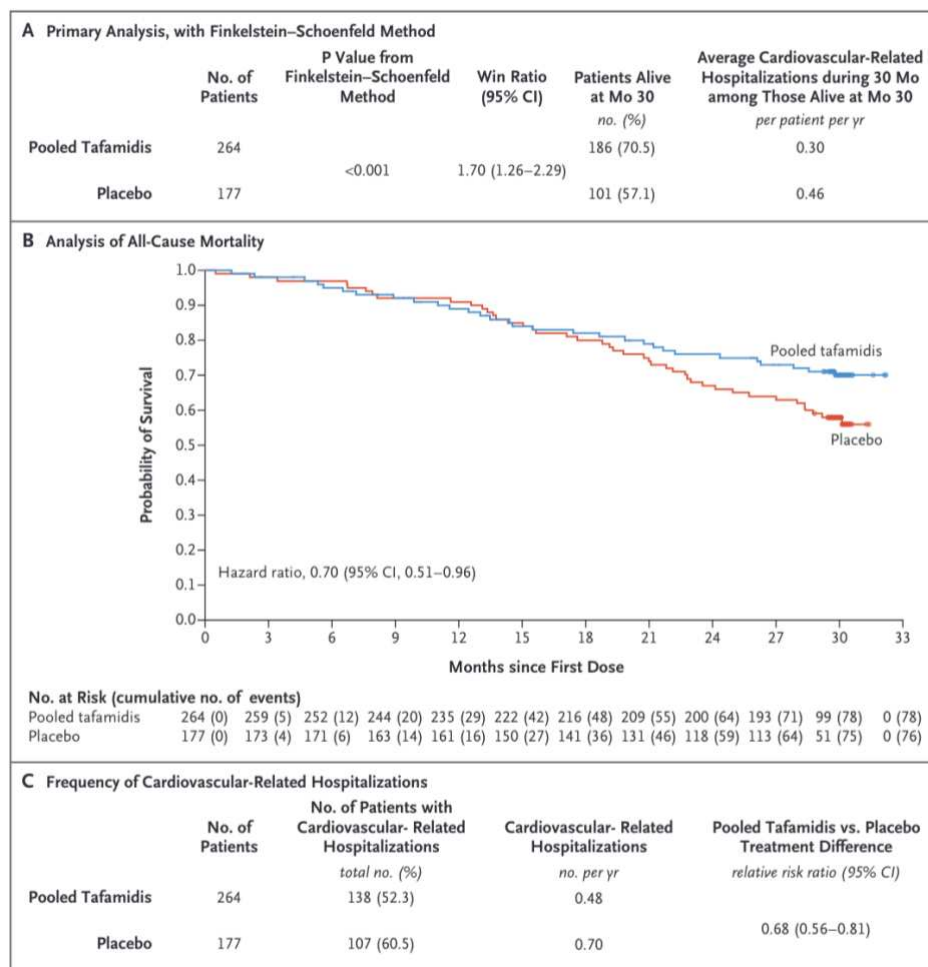


Figura 15: analisi ottenute dallo studio ATTR-ACT per quanto riguarda lo studio sulla mortalità (B) e il rischio di ospedalizzazione per cause cardiovascolari (C) nei pazienti trattati con tafamidis piuttosto che con placebo (101)

Attualmente tafamidis è approvato per il trattamento delle FAP in pazienti con ATTRv (dal 2011 in EU) ed è l'unico farmaco modificante la malattia approvato per il trattamento della CA in un contesto di ATTR (dal 2019 in USA e dal 2020 in EU) (143,144).

#### **2.10.4 Follow-up e prognosi**

È importante valutare l'interazione che il trattamento con tafamidis ha con i parametri bioumorali (come i biomarcatori cardiaci e la TTR), con la performance durante i test funzionali e con la qualità della vita dei pazienti, al fine di riscontrare strumenti utili a valutare la risposta alla terapia.

L'effetto di tafamidis sui marcatori cardiaci è stato inizialmente analizzato in maniera esplorativa nello studio ATTR-ACT (101), e studi successivi hanno confermato una riduzione nel tasso di incremento patologico di NT-proBNP e troponine cardiache nei mesi di trattamento (100,102). Viene proposta un'interpretazione secondo cui la stabilizzazione dei livelli di biomarcatori cardiaci sia direttamente correlata all'azione di tafamidis sulla TTR e la ridotta deposizione di quest'ultima a livello del tessuto miocardico (100).

Per quanto riguarda i valori plasmatici di TTR, è stato più volte riscontrato un loro aumento durante il trattamento con tafamidis, sia in pazienti affetti da ATTRv che ATTRwt, probabile conseguenza della ridotta dissociazione dei tetrameri e conseguente deposizione (105,106). In uno studio svolto su 72 pazienti affetti da cardiomiopatia in ATTR è stato riscontrato un aumento della TTR plasmatica dopo 12 mesi di trattamento del 34,5% (in particolare un aumento del 32% nei pazienti affetti da ATTRwt); Falk et al., gli autori dello studio, sospettano che i livelli di TTR possano essere utilizzati come indicazione della risposta alla terapia (106).

L'efficacia del trattamento con tafamidis è risultata influente anche sui punteggi ottenuti al KCCQ e alla valutazione funzionale con 6MWT.

Un'analisi post hoc sui 441 pazienti affetti da CA da ATTR (264 tafamidis, 177 placebo) arruolati nello studio ATTR-ACT ha dimostrato che i pazienti trattati con tafamidis per un periodo di 30 mesi hanno una probabilità di andare incontro ad un miglioramento di 10 punti

al punteggio di KCCQ pari a 2,5 volte quella dei pazienti trattati con placebo, confermando i risultati ottenuti negli *endpoints* secondari dello studio ATTR-ACT (110).

Sempre nello studio degli *endpoints* secondari di ATTR-ACT, è stato valutato il 6MWT, riscontrando una riduzione nel declino della capacità funzionale dei pazienti trattati con tafamidis già dopo 6 mesi (101).

In seguito a queste evidenze, è stata studiata la relazione tra la variazione di questi parametri in corso di trattamento con tafamidis e le eventuali conseguenze sulla prognosi.

Basandosi sui dati ottenuti dallo studio ATTR-ACT, uno studio post hoc ha riscontrato che i pazienti in trattamento per 30 mesi hanno mostrato una riduzione del rischio di mortalità, indipendentemente dal NYHA, del 42,1%; allo stesso modo è stata riscontrata una riduzione del rischio di ospedalizzazione per cause cardiovascolari del 40,2% nei pazienti in classe NYHA I e II. Tra i predittori di sopravvivenza, associati ad un rischio minore di mortalità ritroviamo migliori risultati al 6MWT e minori concentrazioni di NT-proBNP; oltre a questi anche il genotipo wild-type, una frazione di eiezione migliore e ridotti livelli di azoto ureico (145).

Uno studio ha valutato il valore prognostico delle troponine cardiache, arruolando 18 pazienti in terapia con tafamidis e dividendoli in 2 gruppi in funzione della presenza di un incremento o meno dei livelli plasmatici di TnI a 12 mesi di terapia. L'incidenza cumulativa di ospedalizzazione per tutte le cause è risultata significativamente maggiore nei pazienti con aumento di TnI (100% vs.33%,  $p < 0.0001$ ), così come l'incidenza di ospedalizzazione per SC (60% vs. 25%,  $p = 0.058$ ) (146).

Sono emerse recenti evidenze riguardo una potenziale riduzione della captazione cardiaca di  $^{99m}\text{Tc}$  in seguito al trattamento con tafamidis, ponendo attenzione sulla scintigrafia con tracciante osseo come possibile strumento per valutare la risposta alla terapia (147,148).

### **2.10.5 Tollerabilità**

la somministrazione orale di tafamidis è generalmente ben tollerata, come si evince sia dallo studio Fx-005 che da ATTR-ACT, mostrando un profilo di sicurezza simile al placebo sia in trattamento giornaliero con 20 mg che con 80 mg (101,132).

I più frequenti eventi avversi registrati in corso di trattamento sono nausea e vomito, sintomi di lieve o moderata severità, e solo il 2,8% dei pazienti hanno mostrato eventi avversi gravi.

### **3. SCOPO DELLO STUDIO**

La terapia con tafamidis è la prima approvata per il trattamento della ATTR-CA anche in assenza di neuropatia.

Questo progetto di tesi ha lo scopo di valutare in modo longitudinale una coorte di pazienti affetti da ATTRwt-CA trattati con tafamidis, attraverso lo studio di parametri clinici, biumorali, elettrocardiografici ed ecocardiografici al *baseline* (cioè prima dell'introduzione della terapia) e dopo 12 mesi di trattamento. Inoltre, è stata valutata la frequenza di ospedalizzazioni per scompenso cardiaco ed eventi cerebrovascolari di questi pazienti prima dell'introduzione della terapia e dopo 12 mesi di trattamento.

## 4. MATERIALI E METODI

### 4.1 Popolazione dello studio

È stato svolto uno studio di tipo osservazionale, longitudinale retrospettivo, su pazienti con età > 18 anni affetti da ATTRwt-CA, seguiti presso l'Ambulatorio Specialistico di Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova in un periodo compreso tra il 2020 e il 2023.

I criteri di inclusione sono stati:

- Soggetti maschi e femmine con età  $\geq 18$  anni con diagnosi definitiva di ATTRwt-CA;
- Soggetti in cui sia stata intrapresa terapia con tafamidis e in cui questa sia proseguita per almeno 12 mesi.

I criteri di esclusione sono, invece:

- Soggetti maschi e femmine con età  $\geq 18$  anni con diagnosi di ATTR-CA non in terapia con tafamidis o con una durata del trattamento inferiore ai 12 mesi;
- Soggetti in terapia con tafamidis in uso compassionevole;

Per i criteri diagnostici di ATTRwt-CA si faccia riferimento alle linee guida ESC (95).

### 4.2 Raccolta dei dati

Sono stati raccolti dati anagrafici, informazioni clinico-anamnestiche, parametri biumorali, test funzionali e questionari sulla qualità di vita, parametri elettrocardiografici, parametri ecocardiografi e informazioni sul *follow-up*.

Di seguito il dettaglio dei dati raccolti:

Dati anagrafici:

- Et .
- Sesso.

Informazioni clinico-anamnestiche:

- Data di diagnosi di ATTRwt-CA, riferita alla data di esecuzione di una scintigrafia con traccianti ossei e riscontro di captazione cardiaca, biopsia endomiocardica o GPO positiva per TTR.
- Data della prima valutazione ambulatoriale.
- Data di inizio della terapia con tafamidis.
- N  di ospedalizzazioni per SC dalla diagnosi all'inizio della terapia.
- N  di eventi cerebrovascolari dalla diagnosi all'inizio della terapia.
- Storia di ipertensione arteriosa.
- Storia di diabete mellito.
- Storia di malattia coronarica, valutata con storia anamnestica di infarto miocardico o interventi di rivascularizzazione, o riscontro di stenosi significativa alla coronarografia o alla coro-TC a livello del tronco comune (stenosi  $\geq 50\%$ ) o di altri vasi (stenosi  $\geq 70\%$ ).
- Impianto di PM o ICD precedentemente alla diagnosi o entro 6 mesi da essa.
- Classe funzionale *New York Heart Association* (NYHA). La classificazione NYHA categorizza i pazienti affetti da SC in funzione delle capacit  funzionali, dividendoli in classe I (nessuna limitazione all'attivit  fisica ordinaria), II (lieve limitazione all'attivit  fisica ordinaria con dispnea, palpitazioni o angina), III (marcata limitazione all'attivit  fisica ordinaria), IV (incapacit  di svolgere qualsiasi attivit  fisica senza *discomfort* e possibili sintomi a riposo) (149).

I dati laboratoristici e strumentali sono stati raccolti al *baseline* (prima dell'inizio della terapia) e dopo 12 mesi di terapia con tafamidis (utilizzando gli esami temporalmente pi  vicini al dodicesimo mese di terapia).

Parametri bioumorali, valutati al *baseline* (T0) e dopo 12 mesi (T12):

- cTnI ad alta sensibilit , hs-cTnI (espressa in ng/L).

- BNP (espresso in ng/L).
- NT-proBNP (espresso in ng/L).
- TTR (espressa in mg/L).
- PCR, proteina C reattiva (espressa in mg/L).
- RBP (espressa in mg/L).
- Creatinina sierica (espressa in  $\mu\text{mol/L}$ ).
- eGFR (espresso in mL/min/1.73m<sup>2</sup>).

Test funzionali e questionari, valutati al *baseline* e a 12 mesi:

- 6MWT (distanza in m percorsa in 6 minuti).
- KCCQ (punteggio da 1 a 100 calcolato dalle risposte fornite dal paziente).

Sono stati utilizzati i dati forniti all'inizio della terapia e ai controlli periodici per la stesura del piano terapeutico.

Parametri elettrocardiografici, valutati al *baseline* e a 12 mesi:

- Data di esecuzione dell'ECG. È stato valutato il referto del controllo elettrocardiografico più temporalmente vicino all'inizio della terapia e al controllo a 12 mesi.
- Presenza di ritmo sinusale.
- Presenza di FA o Flutter atriale.
- Presenza di ritmo stimolato da *device*.
- Durata dell'onda P (espressa in ms).
- Presenza di blocco interatriale parziale.
- Presenza di IAB completo.
- Durata intervallo PR (espressa in ms).
- Presenza di blocco di branca sinistro.
- Presenza di emiblocco anteriore sinistro.
- Presenza di blocco di branca destro.
- Durata del complesso QRS (espressa in ms).
- Bassi voltaggi del complesso QRS, considerati tali per valori inferiori a 0,5mV (5mm) in tutte le derivazioni periferiche.
- Segni di ipertrofia del ventricolo destro.



Parametri ecocardiografici, valutati al *baseline* e a 12 mesi:

- Data di svolgimento dell'ecografia. È stato valutato il referto del controllo ecocardiografico più temporalmente vicino all'inizio della terapia e al controllo a 12 mesi.
- FC (espressa in bpm).
- Pressione arteriosa sistolica e diastolica (espressa in mmHg).
- Caratteristiche del ventricolo sinistro, tra cui lo spessore del setto interventricolare (espresso in mm), lo spessore della parete posteriore (espresso in mm), il diametro telediastolico (espresso in mm), la massa (espressa in g), il volume telediastolico (espresso in ml), il volume telesistolico (espresso in ml), la frazione di eiezione (espressa in %), lo strain longitudinale globale (espresso in -%), il rapporto E/e' e il rapporto E/A.
- Caratteristiche del ventricolo destro, tra cui la presenza di ipertrofia del ventricolo destro, spessore della parete libera (espressa in mm), area telediastolica (espressa in cm<sup>2</sup>), area telesistolica (espressa in cm<sup>2</sup>), la frazione di accorciamento (espressa in %) e l'escursione dell'anello tricuspidalico (espressa in mm).
- Volume dell'atrio sinistro (espresso in ml).
- Volume dell'atrio destro (espresso in ml).
- Caratteristiche della vena cava inferiore, tra cui diametro (espresso in mm), l'indice di collassabilità (espresso in %) e la pressione sistolica in arteria polmonare (espressa in mmHg).
- caratteristiche delle valvole, tra cui presenza e entità dell'insufficienza tricuspidalica, presenza e entità dell'insufficienza mitralica, presenza e entità dell'insufficienza aortica, presenza e entità di stenosi valvolari. L'entità delle valvulopatie è stata distinta in grado lieve, moderato o severo.
- Presenza e entità di versamento pericardico.
- Presenza di versamento pleurico.

L'esame ecografico è stato svolto con un ecocardiografo Vivid E9, *General Electric Company*, Boston, USA.

Parametri di *follow-up*:

- N° di ospedalizzazioni per SC durante i 12 mesi di terapia.

- N° di eventi cerebrovascolari durante i 12 mesi di terapia.
- Decesso e data del decesso.

### **4.3 Analisi statistica**

Le variabili continue sono state descritte tramite il valore di mediana e i valori al 25° e 75° percentile (Q1-Q3). Le variabili continue sono state confrontate usando il t-test per campioni dipendenti. Le variabili quantitative sono state espresse in numero assoluto e in percentuale e sono state confrontate usando il test McNemar's chi-square test. Le analisi sono state eseguite con il programma IBM SPSS Statistics 28.0.

## 5. RISULTATI

### 5.1 Dati demografici

Tra i pazienti seguiti presso l'Ambulatorio Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università Padova, 39 soggetti rispettavano i criteri di inclusione e hanno pertanto costituito la popolazione dello studio. Di questi 39 pazienti, 37 erano di sesso maschile (94,9%) e 2 di sesso femminile (5,1%). La mediana dell'età dei pazienti è pari a 77 anni (74-82) (*tabella 1*).

### 4.2 Dati clinico-anamnestici

Per quanto riguarda le comorbidità nei pazienti presi in considerazione, una diagnosi di ipertensione arteriosa è stata riscontrata in 23 soggetti (59%), mentre 4 pazienti soffrivano di DM (10,3%). Un'anamnesi positiva per CAD è stata riscontrata in 11 pazienti (28,9%). I soggetti portatori di PM o ICD sono risultati 7 (17,9%).

Tra i pazienti valutati nello studio, 8 (20,5%) sono stati classificati in classe NYHA I e 31 (79,5%) nella classe NYHA II (*tabella 1*).

DATI DEMOGRAFICI e CLINICO-ANAMNESTICI		
Età (aa)		77 (74, 82)
Sesso (%)	M	37 (94,9%)
	F	2 (5,1%)
Iperensione arteriosa (%)		23 (59,0%)
Diabete mellito (%)		4 (10,3%)
Malattia coronarica (%)		11 (28,9%)
PM/ICD (%)		7 (17,9%)
Classe NYHA (%)	1	8 (20,5%)
	2	31 (79,5%)

Tabella 1: sono riassunte le variabili riferite ai dati demografici e clinico-anamnestici. Le variabili qualitative sono espresse in mediana e in percentuale. Le variabili quantitative sono espresse in mediana e IQR.

### 5.3 Parametri biumorali, test funzionali e qualità della vita

Al *baseline*, la mediana della hs-cTnI è risultata 56,0 ng/L (IQR 30,6-87,0 ng/L), valori ritrovati sostanzialmente stabili a 12 mesi dall'inizio del trattamento, con una mediana di 49,5 ng/L (IQR 31,3-68,0 ng/L),  $p=0,354$  (figura 16a). Per NT-proBNP, al *baseline* è stata trovata una mediana di 1469 ng/L (IQR 611,0-3269,0 ng/L) senza una variazione significativa a 12 mesi, con una mediana di 1661,0 ng/L (IQR 639,0-3238,0 ng/L),  $p=0,275$  (figura 16b).

Lo studio della TTR ha portato ad un valore di mediana al *baseline* di 237,0 mg/L (IQR 193,0-260,0 mg/L), con un aumento significativo a 12 mesi fino ad una mediana di 315,0 mg/L (IQR 268,0-350,0 mg/L),  $p<0,001$  (figura 16c).

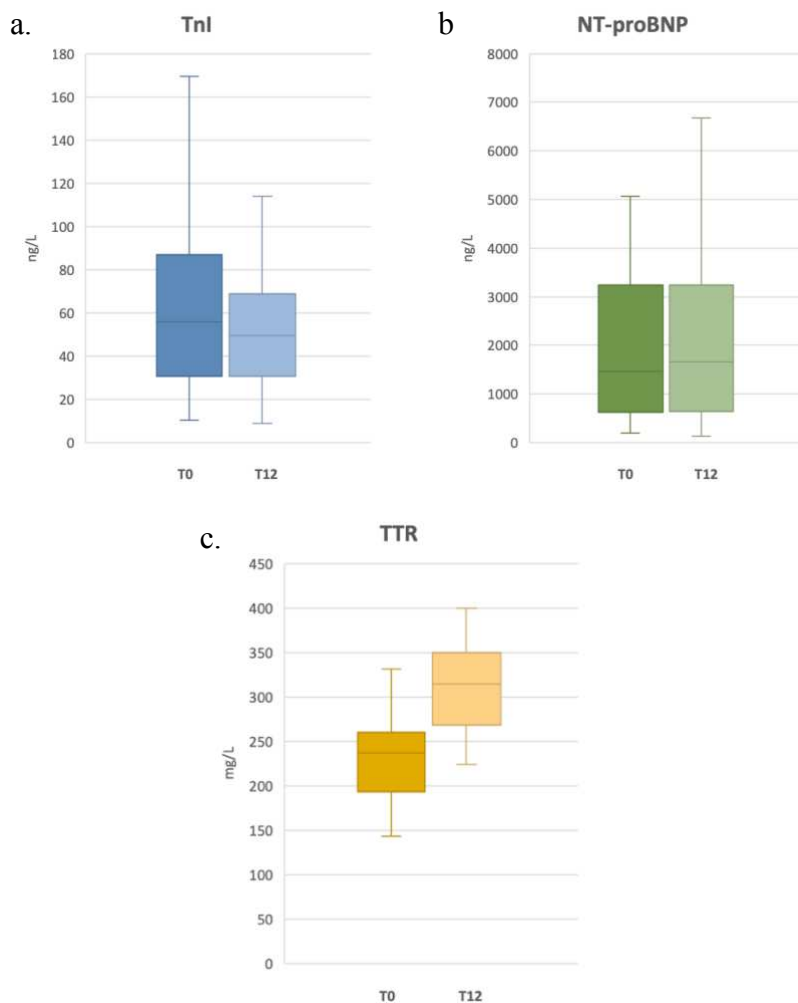


Figura 16: distribuzione in grafici scatola e baffi dei valori di TnI (a), NT-proBNP (b) e TTR (c).

La PCR al *baseline* ha mostrato un valore mediano di 1,15 mg/L (IQR 0,50-2,75 mg/L), mentre a 12 mesi di 1,45 mg/L (IQR 0,70-2,90 mg/L,  $p=0,390$ ).

Per quanto riguarda la funzionalità renale, la creatinina non ha mostrato particolari variazioni nel corso del trattamento, con un valore mediano al *baseline* di 102,50  $\mu\text{mol/L}$  (IQR 81,00-119,85  $\mu\text{mol/L}$ ) e un valore al controllo dopo 12 mesi di 103,9  $\mu\text{mol/L}$  (IQR 88,0-124,4  $\mu\text{mol/L}$ ),  $p=0,184$ . Di conseguenza il calcolo dell'eGFR ha portato ad un valore mediano al *baseline* di 59,10 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (50,46-73,00 mL/min/1.73m<sup>2</sup>), sostanzialmente invariato al controllo con valori di 61,50 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (47,00-69,15 mL/min/1.73m<sup>2</sup>), con un  $p=0,258$ .

Per quanto riguarda la capacità funzionale, il 6MWT ha riportato risultati al *baseline* con una mediana di 418,0 m (IQR 370,0-500,0 m), senza il riscontro di una differenza statisticamente significativa a 12 mesi, con dei valori di 430,0 m (IQR 310,0-520,0 m) e un valore  $p=0,185$  (*figura 17a*).

Le risposte riportate dai pazienti nel KCCQ sono state convertite in punteggio numerico (da 0 a 100) e sono stati calcolati valori al *baseline* con una mediana di 62,0 (IQR 49,4-79,3), mentre i valori al controllo hanno ritrovato un valore mediano di 59,3,0 (IQR 46,3-80,1); è stato calcolato un  $p=0,480$  (*figura 17b*).

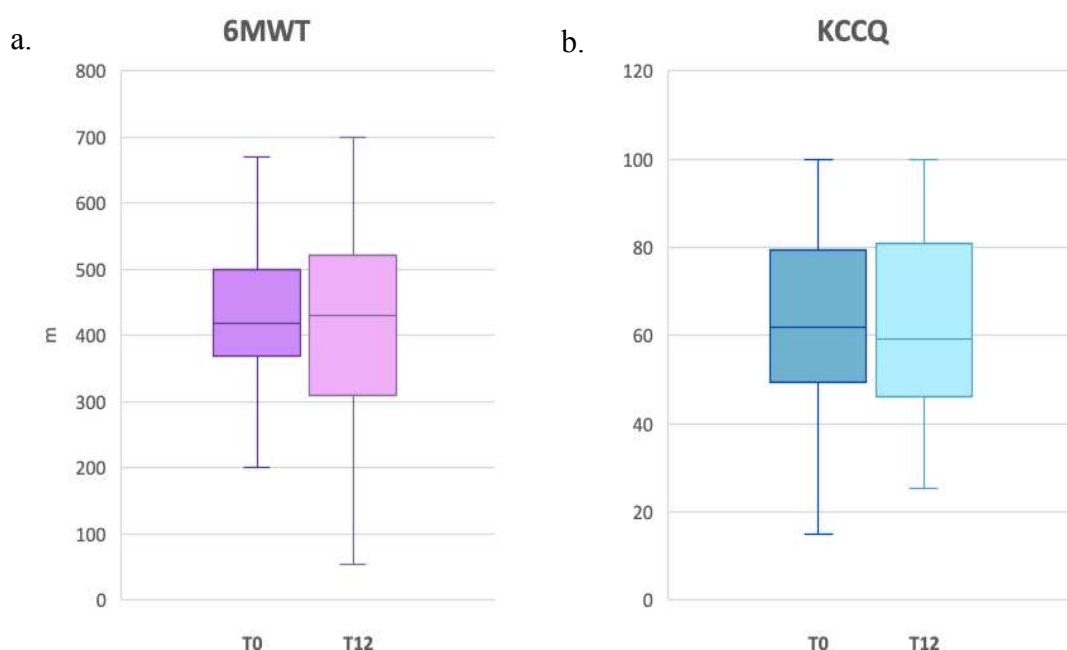


Figura 17: distribuzione in grafici scatola e baffi dei valori di 6MWT(a) e KCCQ (b).

Di seguito viene riportata la tabella 2, dove vengono riassunti i risultati dell'analisi delle variabili laboratoristiche, del 6MWT e del KCCQ.

VARIABLE	BASELINE	12 MESI	P
<b>DATI BIOUMORALI</b>			
Troponina I (ng/L)	56,0 (30,6 - 87,0)	49,5 (31,3 - 68,0)	0,354
NTproBNP (ng/L)	1469,0 (611,0 - 3269,0)	1661,0 (639,0 - 3238,0)	0,275
TTR mg/L (mg/L)	237,0 (193,0 - 260,0)	315,0 (268,0 - 350,0)	<0.001
PCR (mg/L)	1,15 (0,50 - 2,75)	1,45 (0,70 - 2,90)	0,390
Creatinina (µmol/L)	102,50 (81,00 - 119,85)	103,9 (88,0 - 124,4)	0,184
eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	59,10 (50,46 - 73,00)	61,50 (47,00 - 69,15)	0,258
6MWT (m)	418,0 (370,0 - 500,0)	430,0 (310,0 - 520,0)	0,185
KCCQ	62,0 (49,4 - 79,3)	59,3 (46,3 - 80,1)	0,480

Tabella 2: sono riassunte le variabili riferite ai dati bioumorali. Le variabili sono espresse in mediana e IQR.

## 5.4 Risultati di elettrocardiografia

Tra pazienti presi in esame, è stato possibile reperire un ECG al *baseline* in 35 (89,7%), mentre solo 24 (61,5%) presentavano un ECG di controllo a 12 mesi dall'inizio della terapia. Un ritmo sinusale al *baseline* è stato riscontrato in 15 (42,9%) pazienti e in 6 (25%) a 12 mesi, con un  $p=0,250$ . Dei rimanenti pazienti al *baseline* 16 (45,7%) presentavano FA e 1 (2,9%) flutter atriale, mentre a 12 mesi 14 (58,3%) presentavano FA e 2 (8,3%) flutter atriale; il valore  $p=0,625$ . La presenza di *device* è stata riscontrata in 3 (8,8%) pazienti al *baseline* e in 3 (13%) a 12 mesi, calcolando un valore  $p=0,500$ .

I pazienti con LBBB al *baseline* erano 3 (8,6%), mentre era riscontrabile in 4 (16,7%) soggetti al controllo, con un  $p=0,250$ . Un LAH è stato ritrovato in 5 (14,3%) pazienti al *baseline* e 5 (20,8%) dopo 12 mesi, con un  $p=0,250$ . Sono stati riscontrati 7 (20,0%) soggetti con RBBB al *baseline* e 5 (20,8%) a 12 mesi, calcolando un  $p=0,500$ . I bassi voltaggi al LQRSV sono stati riscontrati in 15 (42,9%) pazienti al *baseline* e 10 (41,7%) al controllo a 12 mesi, con un  $p=0,625$ . Infine, segni di ipertrofia del ventricolo destro erano presenti in 6 (20%) dei pazienti al *baseline* e 3 (15,8%) dei pazienti al controllo, con un  $p=0,500$ .

Concentrandosi sulle variabili continue, la durata dell'onda P al *baseline* ha presentato una mediana di 100,0 ms (IQR 80,0-110,0 ms), con un valore mediano a 12 mesi di 100,0 ms

(IQR 94,0-120,0 ms). La durata dell'intervallo PR al *baseline* ha dimostrato un valore mediano di 200,5 ms (IQR 174,5-230,5 ms), mentre al controllo un valore di 171,0 ms (IQR 85,0-248,0 ms); è stato calcolato un  $p=0,167$ . La durata del complesso QRS al *baseline* ha presentato una mediana di 114,0 ms (IQR 100,0-141,0 ms) e al controllo di 117,0 ms (102,0-154,5 ms), con un  $p=0,086$ .

Di seguito viene riportata la tabella 3, dove vengono riassunti i risultati dell'analisi delle variabili elettrocardiografiche.

VARIABILE	BASELINE	12 MESI	P
<b>DATI ELETTROCARDIOGRAFICI</b>			
Ritmo sinusale (%)	15 (42,9)	6 (25,0)	0,250
Fibrillazione atriale (%)	16 (45,7)	14 (58,3)	
Flutter atriale (%)	1 (2,9)	2 (8,3)	0,625
Device (%)	3 (8,8)	3 (13,0)	0,500
Durata onda P (ms)	100,0 (80,0 - 110,0)	100,0 (94,0 - 120,0)	0,412
Durata intervallo PR (ms)	200,5 (174,5 - 230,5)	171,0 (85,0 - 248,0)	0,167
Blocco di branca sinistra (%)	3 (8,6)	4 (16,7)	0,250
Emiblocco anteriore sinistro (%)	5 (14,3)	5 (20,8)	0,250
Blocco di branca destra (%)	7 (20,0)	5 (20,8)	0,500
Durata del QRS (ms)	114,0 (100,0 - 141,0)	117,0 (102,0 - 154,5)	0,086
Bassi voltaggi del QRS (%)	15 (42,9)	10 (41,7)	0,625
Ipertrofia ventricolo destro (%)	6 (20,0)	3 (15,8)	0,500

Tabella 3: sono riassunte le variabili riferite ai dati elettrocardiografici. Le variabili qualitative sono espresse in mediana e in percentuale. Le variabili quantitative sono espresse in mediana e IQR

## 5.5 Risultati di ecocardiografia

Tra pazienti presi in esame, è stato possibile reperire un esame ecografico al *baseline* in 35 (89,7%), mentre solo 24 (61,5%) presentavano un esame ecografico di controllo a 12 mesi dall'inizio della terapia.

Nell'esame ecocardiografico viene inizialmente valutata la FC e la PA sistolica e diastolica. La FC presenta una mediana al *baseline* di 71,5 bpm (IQR 65,0-80,0 bpm), mentre la mediana al controllo di 12 mesi è di 68,0 bpm (IQR 61,0-80,0 bpm),  $p=0,299$ . I valori al

*baseline* di PA sistolica presentano una mediana di 120,0 mmHg (IQR 110,0-130,0 mmHg), e a 12 mesi di 120 mmHg (IQR 120-130 mmHg), con un  $p=0,721$ . Per quanto riguarda la PA diastolica, al *baseline* la mediana è 75,0 mmHg (IQR 70,0-80,0 mmHg), mentre al controllo di 80,0 mmHg (IQR 75,0-80,0 mmHg),  $p=0,721$ .

Sono state poi valutate le caratteristiche del ventricolo sinistro. Per lo IVS è stata calcolato un valore mediano di 18,0 mm (IQR 15,0-20,0 mm) al *baseline* e di 19,0 mm (IQR 17,5-21,0 mm) dopo 12 mesi,  $p=0,049$  (figura 18a). Lo spessore del PW ha mostrato una mediana al *baseline* di 15,0 mm (IQR 14,0-17,0 mm) e al 12 mesi di 17,0 mm (IQR 16,0-19,0 mm);  $p<0,001$ . La mediana al *baseline* di LVEDD è risultata di 45,0 mm (IQR 40,0-47,0 mm), mentre a 12 mesi di 42,0 mm (IQR 40,0-47,0 mm);  $p=0,062$ . La massa del ventricolo sinistro al *baseline* è stata calcolata con una mediana di 307,0 g (IQR 268,0-378,0 g) e a 12 mesi pari a 331,0 g (IQR 296,0-432,0 g);  $p=0,010$ . Per quanto riguarda i volumi, la mediana per i valori di LVEDV è di 112,0 ml (IQR 92,0-135,0 ml) al *baseline* e di 100,5 ml (IQR 85,0-119,0 ml) a 12 mesi, con un  $p=0,004$  (figura 18b). Al *baseline* LVESV ha mostrato una mediana di 56,0 ml (IQR 37,0-65,0 ml), con un valore dopo 12 mesi di 51,0 ml (IQR 42,0-63,0 ml),  $p=0,171$ . I valori al *baseline* di LVEF presentano una mediana del 52% (IQR 44,0-59,0%) e una mediana al controllo a 12 mesi del 50,0% (IQR 42,5-55,0%),  $p=0,084$ . Il LVGLS ha mostrato un valore di mediana al *baseline* di -11,0% (IQR -13,0--7,0%) e un

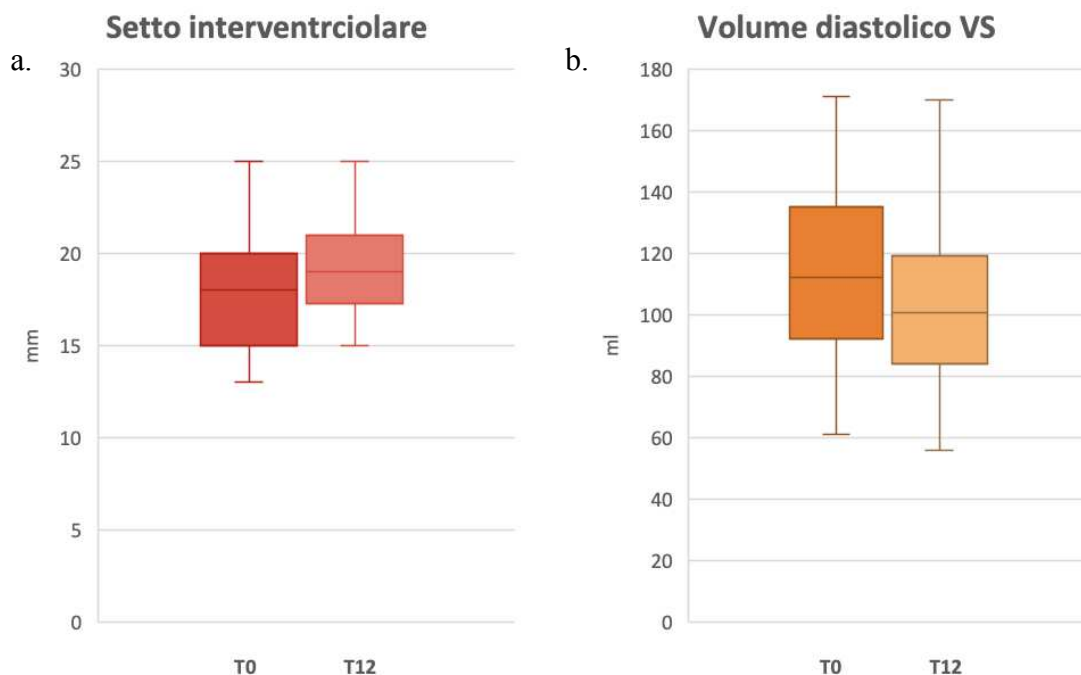


Figura 18: distribuzione in grafici scatola e baffi dei valori di spessore del setto interventricolare (a) e volume diastolico del ventricolo sinistro (b).



valore a 12 mesi di -10,2% (IQR -11,5--9,2%);  $p=0,808$ . La mediana per i valori di E/e' al *baseline* è di 16,10 (IQR 12,51-19,86), e a 12 mesi è di 15,19 (IQR 11,99-19,85), con un  $p=0,558$ . Infine, il rapporto E/A ha mostrato una mediana di 2,43 (IQR 1,34-3,26) al *baseline* e una mediana di 2,76 (IQR 1,66-3,10) a 12 mesi, con un  $p=0,638$ .

A livello del ventricolo destro si è valutata la presenza di ipertrofia, riscontrata in 23 (71,9%) pazienti al *baseline* e 20 (87,0%) al controllo a 12 mesi, con un  $p=0,453$ . Per la RVEDA è stata calcolata una mediana al *baseline* di 22,53 cm<sup>2</sup> (IQR 18,41-24,44 cm<sup>2</sup>) e una mediana a 12 mesi di 19,82 cm<sup>2</sup> (IQR 17,23-24,38 cm<sup>2</sup>), calcolando un  $p=0,137$ . La RVESA ha mostrato un valore mediano al *baseline* di 14,00 cm<sup>2</sup> (IQR 11,48-16,98 cm<sup>2</sup>) e al controllo di 12,42 cm<sup>2</sup> (IQR 10,28-16,57 cm<sup>2</sup>), con un  $p=0,728$ . La valutazione della RV FAC ha riscontrato un valore mediano del 37,0% (IQR 30,0-42,0%) al *baseline* e del 37,5% (IQR 32,0-41,0%) a 12 mesi, calcolando un  $p=0,728$ . Il valore mediano al *baseline* della TAPSE è di 17,0 mm (IQR 14,8-20,4 mm), mentre il valore a 12 mesi è di 16,5 mm (IQR 13,6-20,6 mm); è stato calcolato un  $p=0,802$ .

Per il volume dell'atrio sinistro è stato calcolato un valore mediano di 88,5 ml (IQR 76,0-105,0 ml) al *baseline*, e di 96,5 ml (IQR 87,0-115,5 ml) al controllo a 12 mesi,  $p=0,103$ . Per il volume dell'atrio destro è stata trovata una mediana di 81,0 ml (IQR 64,0-112,0 ml) al *baseline*, e di 94,5 ml (IQR 73,0-120,0 ml) al controllo a 12 mesi,  $p=0,137$ .

Per quanto riguarda la IVC, si è riscontrato un diametro al *baseline* con valore mediano di 18,5 mm (IQR 14,0-20,0 mm), e a 12 mesi con valore mediano di 17,0 mm (IQR 13,0-21,0 mm),  $p=0,702$ . Il collasso della IVC al *baseline* ha mostrato una mediana di 56,2% (IQR 40,7-60,0%), mentre la mediana al controllo è stata di 54,6% (IQR 39,3-59,6%); è stato calcolato un  $p=0,666$ . La PAPS al *baseline* ho mostrato un valore mediano di 35,5 mmHg (IQR 29,0-44,0 mmHg), mentre al controllo è stata trovata una mediana di 39,0 mmHg (IQR 34,0-45,0 mmHg), con un  $p=0,420$ .

I pazienti con riscontro di versamento pericardico al *baseline* sono 3 (8,6%), e 1 (4,2%) dopo 12 mesi,  $p=0,500$ . Per quanto riguarda il versamento pleurico, al *baseline* i pazienti sono 2 (5,7%), mentre nessuno dopo i 12 mesi, con un  $p=0,500$ .

Di seguito viene riportata la tabella 4, dove vengono riassunti i risultati dell'analisi delle variabili ecocardiografiche.

VARIABILE	BASELINE	12 MESI	P
<b>DATI ECOCARDIOGRAFICI</b>			
Frequenza cardiaca (bpm)	71,5 (65,0 - 80,0)	68,0 (61,0 - 80,0)	0,299
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	120,0 (110,0 - 130,0)	120,0 (120,0 - 130,0)	0,569
Pressione arteriosa Diastolica (mmHg)	75,0 (70,0 - 80,0)	80,0 (75,0 - 80,0)	0,721
Setto interventricolare (mm)	18,0 (15,0 - 20,0)	19,0 (17,5 - 21,0)	0,049
Parete posteriore (mm)	15,0 (14,0 - 17,0)	17,0 (16,0 - 19,0)	<0,001
Diametro telediastolico ventricolo sinistro (mm)	45,0 (40,0 - 47,0)	42,0 (40,0 - 47,0)	0,062
Massa ventricolo sinistro (g)	307,0 (268,0 - 378,0)	331,0 (296,0 - 432,0)	0,010
Volume telediastolico ventricolo sinistro (ml)	112,0 (92,0 - 135,0)	100,5 (85,0 - 119,0)	0,004
Volume telesistolico ventricolo sinistro (ml)	56,0 (37,0 - 65,0)	51,0 (42,0 - 63,0)	0,171
Frazione di eiezione (%)	52,0 (44,0 - 59,0)	50,0 (42,5 - 55,0)	0,084
Strain longitudinale globale ventricolo sinistro (%)	-11,0 (-13,0 - -7,0)	-10,2 (-11,5 - -9,2)	0,808
E/A	2,43(1,34 - 3,26)	2,76 (1,66 - 3,10)	0,638
E/e'	16,10 (12,51 - 19,86)	15,19 (11,99 - 19,85)	0,558
Volume atrio sinistro (ml)	88,5 (76,0 - 105,0)	96,5 (87,0 - 115,5)	0,103
Volume atrio destro (ml)	81,0 (64,0 - 112,0)	94,5 (73,0 - 120,0)	0,137
Ipertrofia ventricolo destro (%)	23 (71,9)	20 (87,0)	0,453
Area telediastolica ventricolo destro (cm2)	22,53 (18,41 - 24,44)	19,82 (17,23 - 24,38)	0,113
Area telesistolica ventricolo destro (cm2)	14,00 (11,48 - 16,98)	12,42 (10,28 - 16,57)	0,728
Frazione accorciamento ventricolo destro (%)	37,0 (30,0 - 42,0)	37,5 (32,0 - 41,0)	0,782
Spostamento dell'anello laterale tricuspidalico (mm)	17,0 (14,8 - 20,4)	16,5 (13,6 - 20,6)	0,802
Diametro vena cava inferiore (mm)	18,5 (14,0 - 20,0)	17,0 (13,0 - 21,0)	0,702
Indice collassabilità vena cava inferiore (%)	56,2 (40,7 - 60,0)	54,6 (39,3 - 59,6)	0,666
Pressione sistolica in arteria polmonare (mmHg)	35,5 (29,0 - 44,0)	39,0 (34,0 - 45,0)	0,420

Tabella 4: sono riassunte le variabili riferite ai dati ecocardiografici. Le variabili qualitative sono espresse in mediana e in percentuale. Le variabili quantitative sono espresse in mediana e IQR

## 5.6 Outcome

Alla valutazione al *baseline*, 24 (61,5%) pazienti non avevano alcuna storia di ricoveri per SC, 13 (33,3%) pazienti presentavano 1 singolo ricovero per SC e 2 (5,1%) erano stati ricoverati >1 volta per SC. Il valore al baseline è stato estrapolato valutando gli eventi di ospedalizzazione nel periodo tra la diagnosi e l'inizio del trattamento, periodo che è caratterizzato da una mediana di 9 mesi (IQR 2,5-19,0 mesi). Durante i 12 mesi di trattamento con tafamidis, 35 (89,7%) pazienti non sono stati soggetti a nuovi ricoveri per SC, mentre 4 (10,3%) sono stati soggetti ad 1 singolo ricovero; nessuno dei pazienti valutati è stato ricoverato >1 volta per SC durante il trattamento. È stato calcolato un valore  $p=0,013$  (figura 19).

Al *baseline* tutti e 39 (100%) i pazienti non avevano evidenza di alcun episodio di ictus. Al controllo dopo 12 mesi di terapia 37 (94,9%) pazienti non avevano avuto nuove diagnosi per ictus, mentre queste sono sopraggiunte in 2 (5,1%) soggetti. È stato calcolato un  $p=0,250$ . È stata infine valutata la mortalità dei pazienti in esame, con 37 (94,9%) pazienti sopravvissuti al trattamento, mentre l'*exitus* è avvenuto in 2 (5,1%) soggetti per cause non cardiovascolari.

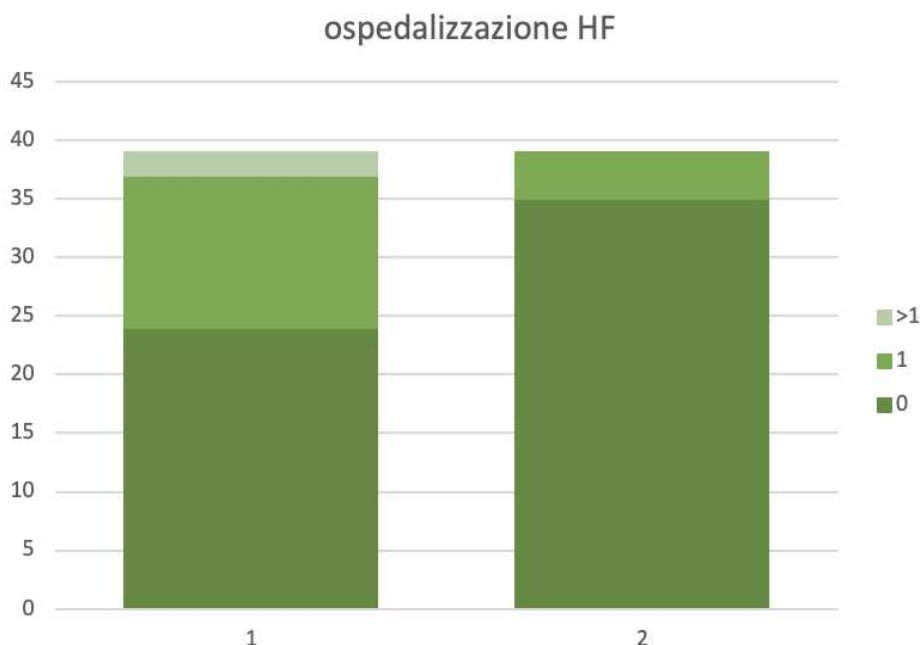


Figura 19: rappresentazione tramite istogrammi degli eventi di ospedalizzazione dovuti a scompenso cardiaco.

Di seguito viene riportata la tabella 5, dove vengono riassunti i risultati dell'analisi riguardanti l'outcome dei pazienti.

<b>VARIABILE</b>		<b>BASELINE</b>	<b>12 MESI</b>	<b>P</b>
<b>OUTCOME</b>				
Ricovero per scompenso cardiaco (%)	1	13 (33,3)	4 (10,3)	0,013
	>1	2 (5,1)	0 (0)	
Ictus (%)		0 (0)	2 (5,1)	0,250
Morte			2 (5,1)	

*Tabella 5: sono riassunte le variabili riferite all'outcome dei pazienti in trattamento con tafamidis. Le variabili qualitative sono espresse in mediana e in percentuale.*

## 6. DISCUSSIONE

Questo progetto di tesi si è focalizzato sugli effetti di 12 mesi di terapia con tafamidis in pazienti affetti da ATTRwt-CA, andando a valutare eventuali evoluzioni a livello clinico, laboratoristico e strumentale. Di seguito la discussione dei nostri risultati.

La nostra coorte è risultata di 39 pazienti, tipicamente anziani (mediana età di 77 anni) e di sesso maschile. Sono state frequentemente riscontrate comorbidità come ipertensione arteriosa o diabete mellito, e i pazienti si trovavano prevalentemente in classe NYA II. È importante che le caratteristiche di base della nostra popolazione vengano messe a confronto con quelle dei pazienti arruolati nello studio ATTR-ACT. In questo caso l'età era leggermente minore (mediana di 75 nei pazienti trattati con tafamidis e 74 in quelli con placebo), mentre era peggiore la valutazione alla classificazione NYHA con un numero minore di soggetti in classe 1 (9,1% e 7,3%) e 2 (61,4% e 57,1%), e un numero significativo in classe 3 (29,5% e 35,6%). Questo è dovuto al fatto che tafamidis non risulta attualmente prescrivibile per i pazienti in classe NYHA III, proprio sulla base dello studio registrativo che non aveva dimostrato un miglioramento dell'outcome in questi pazienti.

### 6.1 Parametri biumorali

Lo studio dei biomarcatori cardiaci di malattia, quali cTnI e NT-proBNP, non ha riscontrato variazioni statisticamente significative tra l'inizio del trattamento e il controllo a 12 mesi. Questo risultato potrebbe essere conforme con le evidenze presenti in letteratura, le quali hanno osservato una riduzione del tasso di incremento di questi parametri, caratteristico della storia naturale della malattia, durante il trattamento con tafamidis (100). Una possibile spiegazione di questo risultato può essere ritrovata nel meccanismo d'azione del farmaco, che, stabilizzando la TTR e impedendone la deposizione a livello miocardico, rallenta la progressione del danno d'organo.

L'analisi dei valori plasmatici di TTR a 12 mesi ha riscontrato un aumento statisticamente significativo del 32,1% rispetto al *baseline*. Anche in questo caso, il risultato è coerente con le evidenze presenti in letteratura, in cui uno studio su una coorte di 72 soggetti ha descritto

un aumento del 32,0% in seguito a 12 mesi di terapia con tafamidis in pazienti affetti da ATTRwt (106). Questo aumento di TTR a livello plasmatico può essere spiegato del meccanismo di azione di tafamidis, il quale, stabilizzandone la struttura in seguito al legame al sito legante T4, ne inibisce la disgregazione e la deposizione a livello periferico.

## **6.2 Test funzionali e qualità della vita**

Per valutare la capacità funzionale dei pazienti sono stati raccolti i dati riguardanti il 6MWT, i quali non hanno riportato delle variazioni statisticamente significative.

Allo stesso modo, lo studio della qualità della vita dei pazienti trattati con tafamidis, svolto attraverso il questionario KCCQ, non ha mostrato cambiamenti significativi tra il *baseline* e il controllo a 12 mesi.

Lo studio di III livello ATTR-ACT (101), tra i suoi *endpoints* secondari, aveva valutato la differente progressione di questi parametri tra pazienti trattati con tafamidis e placebo, riscontrando, nei pazienti sotto terapia, un più lento peggioramento sia in 6MWT che nei punteggi di KCCQ.

I pazienti arruolati nel nostro studio hanno presentato dei valori *baseline* al 6MWT maggiori rispetto ai pazienti di ATTR-ACT, identificando pertanto pazienti con capacità funzionale migliore rispetto a quelli arruolati nello studio registrativo (che infatti includeva anche pazienti in classe NYHA III). È ipotizzabile che sia necessario un tempo più lungo per registrare delle variazioni significative i termini di capacità funzionale nei nostri pazienti. Detto ciò, nonostante alla nostra valutazione non sia emersa alcuna differenza statisticamente significativa, questo risultato potrebbe essere conforme al rallentamento della progressione della patologia osservato nello studio ATTR-ACT.

## **6.3 Risultati di ecocardiografia**

La valutazione ecografica dei pazienti al *baseline* e dopo 12 mesi di terapia con tafamidis è risultata nel riscontro di un aumento dell'ipertrofia a carico del ventricolo sinistro e di una contemporanea riduzione dei volumi. Nel dettaglio, per quanto riguarda l'ipertrofia è stato riscontrato un aumento statisticamente significativo dello spessore a livello del setto interventricolare e della parete posteriore del ventricolo sinistri, con un incremento a livello

della massa. La riduzione del volume è stata riscontrata attraverso un decremento statisticamente significativo del volume telediastolico del ventricolo sinistro.

Queste alterazioni ecocardiografiche, potenzialmente indice di progressione di malattia, possono essere spiegate dal fatto che tafamidis sia un farmaco stabilizzatore della transtiretina, che agisce su un'eventuale nuova deposizione, senza la possibilità di intaccare i depositi di fibrille già presenti. Inoltre, in assenza di un gruppo di controllo, non ci è possibile chiarire se tali indici sarebbero cambiati in modo più rilevante in assenza di terapia.

## **6.4 Outcome**

In questo studio sono stati valutati gli eventi di ospedalizzazione per SC nel periodo intercorso dalla diagnosi all'inizio della terapia con tafamidis rispetto al primo anno di trattamento. Nonostante il periodo che intercorre tra la diagnosi e l'inizio della terapia sia variabile, i risultati ottenuti mostrano un numero minore di ricoveri per SC nei 12 mesi di terapia rispetto al periodo precedente.

Questa evidenza è conforme ai risultati ottenuti dallo studio ATTR-ACT (101), nel quale era stata riscontrato un rischio annuo di ospedalizzazione per cause cardiovascolari minore tra i pazienti in terapia con tafamidis rispetto al placebo (0,48 vs. 0,70).

La dimostrazione dell'efficacia di tafamidis nel prevenire le ospedalizzazioni da cause cardiovascolari potrebbe essere un punto di partenza per futuri studi di farmacoeconomia, con lo scopo di valutare un potenziale risparmio in termini di risorse per il Servizio sanitario nazionale.

## **6.5 Limiti dello studio**

Per quanto riguarda i limiti di questo studio va sicuramente citata la natura retrospettiva, che impedisce di avere a disposizione i dati in modo completo ed esaustivo. Anche le dimensioni ridotte del campione analizzato potrebbero aver interferito con il riscontro di dati statisticamente significativi. Questo studio ha il vantaggio di analizzare i pazienti longitudinalmente, tuttavia, per un'analisi più completa, si potrebbe valutare gli stessi parametri in pazienti non sottoposti alla terapia con tafamidis (gruppo di controllo),

determinando le differenze. Infine, questo studio si è concentrato unicamente sui pazienti affetti da ATTRwt-CA, senza includere i pazienti con ATTRv-CA a causa del numero limitato di tali pazienti in terapia con tafamidis.



## 7. CONCLUSIONE

La valutazione longitudinale di questa coorte di pazienti con ATTRwt-CA nei primi 12 mesi di terapia con tafamidis ha permesso di osservarne l'evoluzione a livello clinico, biumorale e strumentale. Tra i dati laboratoristici si è assistito ad una stabilizzazione dei biomarcatori cardiaci, possibile conseguenza del rallentamento nella progressione di malattia, mentre la TTR ha subito un aumento significativo, data la sua stabilizzazione da parte di tafamidis. In maniera simile ai biomarcatori cardiaci, anche il test del cammino dei sei minuti, quale test di capacità funzionale, e la percezione della qualità della vita, valutata con apposito questionario KCCQ, non sono andati incontro ad un peggioramento statisticamente significativo. Le evidenze ecocardiografiche hanno mostrato un aumento dell'ipertrofia del ventricolo sinistro in associazione ad una riduzione del volume di quest'ultimo; questo dato andrebbe interpretato anche in relazione ad un gruppo di controllo e comunque considerando che tafamidis ha la funzione di stabilizzare la TTR riducendo la formazione di nuovi depositi ma senza ridurre quelli già formati. Per quanto riguarda l'outcome, è stata registrata una riduzione dei ricoveri per SC nei 12 mesi di trattamento rispetto al periodo antecedente l'inizio della terapia.

Ulteriori studi su campioni maggiori sono necessari per identificare potenziali marcatori di futura risposta alla terapia specifica.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Muchtar E, Dispenzieri A, Magen H, et al. Systemic amyloidosis from A (AA) to T (ATTR): a review. *J Intern Med.* 2021;289(3):268-292. doi:10.1111/joim.13169
2. 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;27(4):217-222. doi:10.1080/13506129.2020.1835263
3. Falk RH, Alexander KM, Liao R, Dorbala S. AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(12):1323-1341. doi:10.1016/j.jacc.2016.06.053
4. Ma C, Hong F, Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. *Molecules.* 2022;27(4):1210. doi:10.3390/molecules27041210
5. Martinez-Naharro A, Hawkins PN, Fontana M. Cardiac amyloidosis. *Clin Med.* 2018;18(Suppl 2):s30-s35. doi:10.7861/clinmedicine.18-2s-s30
6. Ruberg FL, Grogan M, Hanna M, Kelly JW, Maurer MS. Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(22):2872-2891. doi:10.1016/j.jacc.2019.04.003
7. Bahlis NJ, Lazarus HM. Multiple myeloma-associated AL amyloidosis: is a distinctive therapeutic approach warranted? *Bone Marrow Transplant.* 2006;38(1):7-15. doi:10.1038/sj.bmt.1705395
8. Hasserjian RP, Goodman HJB, Lachmann HJ, Muzikansky A, Hawkins PN. Bone marrow findings correlate with clinical outcome in systemic AL amyloidosis patients. *Histopathology.* 2007;50(5):567-573. doi:10.1111/j.1365-2559.2007.02658.x
9. Senile Systemic Amyloidosis: Clinical Features at Presentation and Outcome. doi:10.1161/JAHA.113.000098
10. 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(10):1014-1020. doi:10.1016/j.jacc.2016.06.033

11. 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;34(7):520-528. doi:10.1093/eurheartj/ehs123
12. Buxbaum JN, Ruberg FL. Transthyretin V122I (pV142I)\* cardiac amyloidosis: an age-dependent autosomal dominant cardiomyopathy too common to be overlooked as a cause of significant heart disease in elderly African Americans. *Genet Med.* 2017;19(7):733-742. doi:10.1038/gim.2016.200
13. Reilly MM, Staunton H, Harding AE. Familial amyloid polyneuropathy (TTR ala 60) in north west Ireland: a clinical, genetic, and epidemiological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1995;59(1):45-49. doi:10.1136/jnnp.59.1.45
14. Quock TP, Yan T, Chang E, Guthrie S, Broder MS. Epidemiology of AL amyloidosis: a real-world study using US claims data. *Blood Adv.* 2018;2(10):1046-1053. doi:10.1182/bloodadvances.2018016402
15. Weiss BM, Lund SH, Bjorkholm M, et al. Improved Survival in AL Amyloidosis: A Population-Based Study on 1,430 Patients Diagnosed in Sweden 1995-2013. *Blood.* 2016;128(22):4448-4448. doi:10.1182/blood.V128.22.4448.4448
16. Ash S, Shorer E, Ramgobin D, et al. Cardiac amyloidosis-A review of current literature for the practicing physician. *Clin Cardiol.* 2021;44(3):322-331. doi:10.1002/clc.23572
17. Dogan A. Amyloidosis: Insights from Proteomics. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2017;12(1):277-304. doi:10.1146/annurev-pathol-052016-100200
18. Sekijima Y. Transthyretin (ATTR) amyloidosis: clinical spectrum, molecular pathogenesis and disease-modifying treatments. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(9):1036-1043. doi:10.1136/jnnp-2014-308724
19. Hurshman AR, White JT, Powers ET, Kelly JW. Transthyretin Aggregation under Partially Denaturing Conditions Is a Downhill Polymerization. *Biochemistry.* 2004;43(23):7365-7381. doi:10.1021/bi0496211

20. Liao R, Jain M, Teller P, et al. Infusion of Light Chains From Patients With Cardiac Amyloidosis Causes Diastolic Dysfunction in Isolated Mouse Hearts. *Circulation*. 2001;104(14):1594-1597. doi:10.1161/circ.104.14.1594
21. Hassan W, Al-Sergani H, Mourad W, Tabbaa R. Amyloid Heart Disease. *Tex Heart Inst J*. 2005;32(2):178-184.
22. Bhogal S, Ladia V, Sitwala P, et al. Cardiac Amyloidosis: An Updated Review With Emphasis on Diagnosis and Future Directions. *Curr Probl Cardiol*. 2018;43(1):10-34. doi:10.1016/j.cpcardiol.2017.04.003
23. Itzhaki Ben Zadok O, Kornowski R. Cardiac Care of Patients with Cardiac Amyloidosis. *Acta Haematol*. 2020;143(4):343-351. doi:10.1159/000506919
24. Dharmarajan K, Maurer MS. Transthyretin Cardiac Amyloidoses in Older North Americans. *J Am Geriatr Soc*. 2012;60(4):765-774. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03868.x
25. Ng B, Connors LH, Davidoff R, Skinner M, Falk RH. Senile Systemic Amyloidosis Presenting With Heart Failure: A Comparison With Light Chain–Associated Amyloidosis. *Arch Intern Med*. 2005;165(12):1425. doi:10.1001/archinte.165.12.1425
26. Longhi S, Quarta CC, Milandri A, et al. Atrial fibrillation in amyloidotic cardiomyopathy: prevalence, incidence, risk factors and prognostic role. *Amyloid*. 2015;22(3):147-155. doi:10.3109/13506129.2015.1028616
27. Dorbala S, Vangala D, Bruyere J, et al. Coronary Microvascular Dysfunction Is Related to Abnormalities in Myocardial Structure and Function in Cardiac Amyloidosis. *JACC Heart Fail*. 2014;2(4):358-367. doi:10.1016/j.jchf.2014.03.009
28. Patel KS, Hawkins PN. Cardiac amyloidosis: where are we today? *J Intern Med*. 2015;278(2):126-144. doi:10.1111/joim.12383
29. Westermark P, Westermark GT, Suhr OB, Berg S. Transthyretin-derived amyloidosis: Probably a common cause of lumbar spinal stenosis. *Ups J Med Sci*. 2014;119(3):223-228. doi:10.3109/03009734.2014.895786
30. Aus Dem Siepen F, Hein S, Prestel S, et al. Carpal tunnel syndrome and spinal canal stenosis: harbingers of transthyretin amyloid cardiomyopathy? *Clin Res Cardiol*.

2019;108(12):1324-1330. doi:10.1007/s00392-019-01467-1

31. Geller HI, Singh A, Alexander KM, Mirto TM, Falk RH. Association Between Ruptured Distal Biceps Tendon and Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JAMA*. 2017;318(10):962. doi:10.1001/jama.2017.9236
32. Kaku M, Berk JL. Neuropathy Associated with Systemic Amyloidosis. *Semin Neurol*. 2019;39(05):578-588. doi:10.1055/s-0039-1688994
33. Ando Y, Suhr OB. Autonomic dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid*. 1998;5(4):288-300. doi:10.3109/13506129809007303
34. Gertz M, Adams D, Ando Y, et al. Avoiding misdiagnosis: expert consensus recommendations for the suspicion and diagnosis of transthyretin amyloidosis for the general practitioner. *BMC Fam Pract*. 2020;21(1):198. doi:10.1186/s12875-020-01252-4
35. Desport E, Bridoux F, Sirac C, et al. AL Amyloidosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):54. doi:10.1186/1750-1172-7-54
36. Sancherawala V. Light-Chain (AL) Amyloidosis: Diagnosis and Treatment. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(6):1331-1341. doi:10.2215/CJN.02740806
37. Rapezzi C, Merlini G, Quarta CC, et al. Systemic Cardiac Amyloidoses: Disease Profiles and Clinical Courses of the 3 Main Types. *Circulation*. 2009;120(13):1203-1212. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.843334
38. Vergaro G, Castiglione V, Aimo A, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and high-sensitivity troponin T hold diagnostic value in cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail*. 2023;25(3):335-346. doi:10.1002/ejhf.2769
39. Vergaro G, Aimo A, Barison A, et al. Keys to early diagnosis of cardiac amyloidosis: red flags from clinical, laboratory and imaging findings. *Eur J Prev Cardiol*. 2020;27(17):1806-1815. doi:10.1177/2047487319877708
40. Kyriakou P, Mouselimis D, Tsarouchas A, et al. Diagnosis of cardiac amyloidosis: a systematic review on the role of imaging and biomarkers. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018;18(1):221. doi:10.1186/s12872-018-0952-8

41. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*. 2009;23(2):215-224. doi:10.1038/leu.2008.307
42. Golombick T, Diamond TH, Manoharan A, Ramakrishna R. Monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, and curcumin: A randomized, double-blind placebo-controlled cross-over 4g study and an open-label 8g extension study. *Am J Hematol*. 2012;87(5):455-460. doi:10.1002/ajh.23159
43. Palladini G, Russo P, Bosoni T, et al. Identification of Amyloidogenic Light Chains Requires the Combination of Serum-Free Light Chain Assay with Immunofixation of Serum and Urine. *Clin Chem*. 2009;55(3):499-504. doi:10.1373/clinchem.2008.117143
44. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129-2200. doi:10.1093/eurheartj/ehw128
45. Vodovar N, Mebazaa A, Januzzi JL, et al. Evolution of natriuretic peptide biomarkers in heart failure: Implications for clinical care and clinical trials. *Int J Cardiol*. 2018;254:215-221. doi:10.1016/j.ijcard.2017.11.001
46. Yoshimura M, Yasue H, Ogawa H. Pathophysiological significance and clinical application of ANP and BNP in patients with heart failure. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001;79(8):730-735. doi:10.1139/y01-039
47. Palladini G, Campana C, Klersy C, et al. Serum N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide Is a Sensitive Marker of Myocardial Dysfunction in AL Amyloidosis. *Circulation*. 2003;107(19):2440-2445. doi:10.1161/01.CIR.0000068314.02595.B2
48. Castiglione V, Franzini M, Aimo A, et al. Use of biomarkers to diagnose and manage cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail*. 2021;23(2):217-230. doi:10.1002/ejhf.2113
49. Thibaud Damy, Jean-François Deux, Stéphane Moutereau, et al. Role of natriuretic peptide to predict cardiac abnormalities in patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *Amyloid*. 2013;20(4):212-220. doi:10.3109/13506129.2013.825240

50. Palladini G, Foli A, Milani P, et al. Best use of cardiac biomarkers in patients with AL amyloidosis and renal failure. *Am J Hematol.* 2012;87(5):465-471. doi:10.1002/ajh.23141
51. Omland T, Røsjø H, Giannitsis E, Agewall S. Troponins in heart failure. *Clin Chim Acta.* 2015;443:78-84. doi:10.1016/j.cca.2014.08.016
52. Cappelli F, Baldasseroni S, Bergesio F, et al. Echocardiographic and Biohumoral Characteristics in Patients With AL and TTR Amyloidosis at Diagnosis: AL and TTR amyloidosis characteristic. *Clin Cardiol.* 2015;38(2):69-75. doi:10.1002/clc.22353
53. Kimishima Y, Yoshihisa A, Kiko T, et al. Utility of B-Type Natriuretic Peptide for Detecting Cardiac Involvement in Immunoglobulin Amyloidosis. *Int Heart J.* 2019;60(5):1106-1112. doi:10.1536/ihj.19-043
54. Nicol M, Baudet M, Brun S, et al. Diagnostic score of cardiac involvement in AL amyloidosis. *Eur Heart J - Cardiovasc Imaging.* 2020;21(5):542-548. doi:10.1093/ehjci/jez180
55. Suhr OB, Anan I, Backman C, et al. Do troponin and B-natriuretic peptide detect cardiomyopathy in transthyretin amyloidosis? *J Intern Med.* 2008;263(3):294-301. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01888.x
56. Ingenbleek Y, Young V. Transthyretin (Prealbumin) in Health and Disease: Nutritional Implications. *Annual Review of Nutrition.* 1994;14(1):495-533. doi:10.1146/annurev.nu.14.070194.002431
57. Dellièrè S, Cynober L. Is transthyretin a good marker of nutritional status? *Clin Nutr.* 2017;36(2):364-370. doi:10.1016/j.clnu.2016.06.004
58. Buxbaum J, Anan I, Suhr O. Serum transthyretin levels in Swedish TTR V30M carriers. *Amyloid.* 2010;17(2):83-85. doi:10.3109/13506129.2010.483118
59. Buxbaum J, Koziol J, Connors LH. Serum transthyretin levels in senile systemic amyloidosis: effects of age, gender and ethnicity. *Amyloid.* 2008;15(4):255-261. doi:10.1080/13506120802525285
60. 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;2(3):305. doi:10.1001/jamacardio.2016.5864

61. Cheng Z, Zhu K, Tian Z, Zhao D, Cui Q, Fang Q. The Findings of Electrocardiography in Patients with Cardiac Amyloidosis: The Electrocardiography of Cardiac Amyloidosis. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2013;18(2):157-162. doi:10.1111/anec.12018

62. Porcari A, Fontana M, Gillmore JD. Transthyretin cardiac amyloidosis. *Cardiovascular Research.* 2022;118(18):3517-3535. doi:10.1093/cvr/cvac119

63. 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;114(7):1089-1093. doi:10.1016/j.amjcard.2014.07.026

64. Zhao L, Li J, Tian Z, Fang Q. Clinical correlates and prognostic values of pseudoinfarction in cardiac light-chain amyloidosis. *J Cardiol.* 2016;68(5):426-430. doi:10.1016/j.jjcc.2015.11.004

65. Cheng Z, Kang L, Tian Z, et al. Utility of Combined Indexes of Electrocardiography and Echocardiography in the Diagnosis of Biopsy Proven Primary Cardiac Amyloidosis: Noninvasive Diagnosis of Primary Cardiac Amyloidosis. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2011;16(1):25-29. doi:10.1111/j.1542-474X.2010.00403.x

66. Hartnett J, Jaber W, Maurer M, et al. Electrophysiological Manifestations of Cardiac Amyloidosis. *JACC CardioOncology.* 2021;3(4):506-515. doi:10.1016/j.jacc.2021.07.010

67. Martini N, Sinigiani G, De Michieli L, et al. Electrocardiographic features and rhythm disorders in cardiac amyloidosis. *Trends Cardiovasc Med.* Published online February 2023:S1050173823000245. doi:10.1016/j.tcm.2023.02.006

68. Kristen AV, Dengler TJ, Hegenbart U, et al. Prophylactic implantation of cardioverter-defibrillator in patients with severe cardiac amyloidosis and high risk for sudden cardiac death. *Heart Rhythm.* 2008;5(2):235-240. doi:10.1016/j.hrthm.2007.10.016

69. Cipriani A, De Michieli L, Porcari A, et al. Low QRS Voltages in Cardiac Amyloidosis. *JACC CardioOncology.* 2022;4(4):458-470. doi:10.1016/j.jacc.2022.08.007



70. Murtagh B, Hammill SC, Gertz MA, Kyle RA, Tajik AJ, Grogan M. Electrocardiographic findings in primary systemic amyloidosis and biopsy-proven cardiac involvement. *Am J Cardiol.* 2005;95(4):535-537. doi:10.1016/j.amjcard.2004.10.028
71. Giancaterino S, Urey MA, Darden D, Hsu JC. Management of Arrhythmias in Cardiac Amyloidosis. *JACC Clin Electrophysiol.* 2020;6(4):351-361. doi:10.1016/j.jacep.2020.01.004
72. Falk RH, Rubinow A, Cohen AS. Cardiac arrhythmias in systemic amyloidosis: correlation with echocardiographic abnormalities. *J Am Coll Cardiol.* 1984;3(1):107-113. doi:10.1016/S0735-1097(84)80436-2
73. Cappelli F, Cipriani A, Russo D, et al. Prevalence and prognostic role of nonsustained ventricular tachycardia in cardiac amyloidosis. *Amyloid Int J Exp Clin Investig Off J Int Soc Amyloidosis.* 2022;29(3):211-212. doi:10.1080/13506129.2022.2060073
74. Fontana M, Ćorović A, Scully P, Moon JC. Myocardial Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2019;12(11):2345-2356. doi:10.1016/j.jcmg.2019.06.023
75. Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, et al. Relative apical sparing of longitudinal strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography is both sensitive and specific for the diagnosis of cardiac amyloidosis. *Heart.* 2012;98(19):1442-1448. doi:10.1136/heartjnl-2012-302353
76. Senapati A, Sperry BW, Grodin JL, et al. Prognostic implication of relative regional strain ratio in cardiac amyloidosis. *Heart.* 2016;102(10):748-754. doi:10.1136/heartjnl-2015-308657
77. Castaño 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(38):2879-2887. doi:10.1093/eurheartj/ehx350
78. Fontana M, Chung R, Hawkins PN, Moon JC. Cardiovascular magnetic resonance for amyloidosis. *Heart Fail Rev.* 2015;20(2):133-144. doi:10.1007/s10741-014-9470-7
79. Martinez-Naharro A, Treibel TA, Abdel-Gadir A, et al. Magnetic Resonance in

Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(4):466-477. doi:10.1016/j.jacc.2017.05.053

80. Moon JCC, Reed E, Sheppard MN, et al. The histologic basis of late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(12):2260-2264. doi:10.1016/j.jacc.2004.03.035

81. Vogelsberg H, Mahrholdt H, Deluigi CC, et al. Cardiovascular Magnetic Resonance in Clinically Suspected Cardiac Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(10):1022-1030. doi:10.1016/j.jacc.2007.10.049

82. Fontana M, Pica S, Reant P, et al. Prognostic Value of Late Gadolinium Enhancement Cardiovascular Magnetic Resonance in Cardiac Amyloidosis. *Circulation.* 2015;132(16):1570-1579. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016567

83. Tuzovic M, Yang EH, Baas AS, et al. Cardiac Amyloidosis: Diagnosis and Treatment Strategies. *Curr Oncol Rep.* 2017;19(7):46. doi:10.1007/s11912-017-0607-4

84. Fontana M, Banyersad SM, Treibel TA, et al. Native T1 Mapping in Transthyretin Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014;7(2):157-165. doi:10.1016/j.jcmg.2013.10.008

85. Baggiano A, Boldrini M, Martinez-Naharro A, et al. Noncontrast Magnetic Resonance for the Diagnosis of Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020;13(1):69-80. doi:10.1016/j.jcmg.2019.03.026

86. Willerson JT, Parkey RW, Bonte FJ, Lewis SE, Corbett J, Maximilian Buja L. Pathophysiologic considerations and clinicopathological correlates of technetium-99m stannous pyrophosphate myocardial scintigraphy. *Semin Nucl Med.* 1980;10(1):54-69. doi:10.1016/S0001-2998(80)80029-8

87. 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;46(6):1076-1084. doi:10.1016/j.jacc.2005.05.073

88. Dorbala S, Cuddy S, Falk RH. How to Image Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2020;13(6):1368-1383. doi:10.1016/j.jcmg.2019.07.015

89. Gillmore JD, Maurer MS, Falk RH, et al. Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation*. 2016;133(24):2404-2412. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612
90. Riefolo M, Conti M, Longhi S, Fabbrizio B, Leone O. Amyloidosis: What does pathology offer? The evolving field of tissue biopsy. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:1081098. doi:10.3389/fcvm.2022.1081098
91. 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(24):4957-4959. doi:10.1182/blood-2009-07-230722
92. Garcia Y, Collins AB, Stone JR. Abdominal fat pad excisional biopsy for the diagnosis and typing of systemic amyloidosis. *Hum Pathol*. 2018;72:71-79. doi:10.1016/j.humpath.2017.11.001
93. Siddiqi OK, Ruberg FL. Cardiac amyloidosis: An update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Trends Cardiovasc Med*. 2018;28(1):10-21. doi:10.1016/j.tcm.2017.07.004
94. Pellikka PA, Holmes DR Jr, Edwards WD, Nishimura RA, Tajik AJ, Kyle RA. Endomyocardial Biopsy in 30 Patients With Primary Amyloidosis and Suspected Cardiac Involvement. *Archives of Internal Medicine*. 1988;148(3):662-666. doi:10.1001/archinte.1988.00380030168027
95. Garcia-Pavia P, Rapezzi C, Adler Y, et al. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2021;42(16):1554-1568. doi:10.1093/eurheartj/ehab072
96. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Serum Cardiac Troponins and N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide: A Staging System for Primary Systemic Amyloidosis. *J Clin Oncol*. 2004;22(18):3751-3757. doi:10.1200/JCO.2004.03.029
97. Dittrich T, Bochtler T, Kimmich C, et al. AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood*. 2017;130(5):632-642. doi:10.1182/blood-2017-02-767475
98. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Revised Prognostic Staging System for

Light Chain Amyloidosis Incorporating Cardiac Biomarkers and Serum Free Light Chain Measurements. *J Clin Oncol.* 2012;30(9):989-995. doi:10.1200/JCO.2011.38.5724

99. Gillmore JD, Damy T, Fontana M, et al. A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J.* 2018;39(30):2799-2806. doi:10.1093/eurheartj/ehx589

100. Oghina S, Josse C, Bézard M, et al. Prognostic Value of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide and High-Sensitivity Troponin T Levels in the Natural History of Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy and Their Evolution after Tafamidis Treatment. *J Clin Med.* 2021;10(21):4868. doi:10.3390/jcm10214868

101. Maurer MS, Schwartz JH, Gundapaneni B, et al. Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2018;379(11):1007-1016. doi:10.1056/NEJMoa1805689

102. Damy T, Garcia-Pavia P, Hanna M, et al. Efficacy and safety of tafamidis doses in the Tafamidis in Transthyretin Cardiomyopathy Clinical Trial (ATTR-ACT) and long-term extension study. *Eur J Heart Fail.* 2021;23(2):277-285. doi:10.1002/ejhf.2027

103. Rettl R, Duca F, Binder C, et al. P896 Effects of tafamidis in patients with transthyretin amyloid cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2019;40(Supplement\_1):ehz747.0492. doi:10.1093/eurheartj/ehz747.0492

104. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New Criteria for Response to Treatment in Immunoglobulin Light Chain Amyloidosis Based on Free Light Chain Measurement and Cardiac Biomarkers: Impact on Survival Outcomes. *J Clin Oncol.* 2012;30(36):4541-4549. doi:10.1200/JCO.2011.37.7614

105. Gamino D, Teruya S, De Los Santos J, Helmke S, Guadalupe S, Maurer M. Tafamidis Increases Serum TTR (Prealbumin) Levels in both ATTRh and ATTRwt Cardiac Amyloidosis. *J Card Fail.* 2019;25(8):S21. doi:10.1016/j.cardfail.2019.07.062

106. Falk RH, Haddad M, Walker CR, Dorbala S, Cuddy SAM. Effect of Tafamidis on Serum Transthyretin Levels in Non-Trial Patients With Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *JACC CardioOncology.* 2021;3(4):580-586. doi:10.1016/j.jacc.2021.08.007

107. Spertus J, Peterson E, Conard MW, et al. Monitoring clinical changes in patients with

heart failure: A comparison of methods. *Am Heart J.* 2005;150(4):707-715. doi:10.1016/j.ahj.2004.12.010

108. Green CP, Porter CB, Bresnahan DR, Spertus JA. Development and evaluation of the Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire: a new health status measure for heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(5):1245-1255. doi:10.1016/S0735-1097(00)00531-3

109. Spertus JA, Jones PG, Sandhu AT, Arnold SV. Interpreting the Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire in Clinical Trials and Clinical Care. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(20):2379-2390. doi:10.1016/j.jacc.2020.09.542

110. Sperry BW, Hanna M, Maurer MS, et al. Association of Tafamidis With Health Status in Patients With ATTR Cardiac Amyloidosis: A Post Hoc Analysis of the ATTR-ACT Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiol.* 2023;8(3):275. doi:10.1001/jamacardio.2022.5251

111. Giannitsi S, Bougiakli M, Bechlioulis A, Kotsia A, Michalis LK, Naka KK. 6-minute walking test: a useful tool in the management of heart failure patients. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2019;13:175394471987008. doi:10.1177/1753944719870084

112. Donnelly JP, Hanna M. Cardiac amyloidosis: An update on diagnosis and treatment. *Cleve Clin J Med.* 2017;84(12 suppl 3):12-26. doi:10.3949/ccjm.84.s3.02

113. Emdin M, Aimo A, Rapezzi C, et al. Treatment of cardiac transthyretin amyloidosis: an update. *Eur Heart J.* 2019;40(45):3699-3706. doi:10.1093/eurheartj/ehz298

114. Gertz MA, Skinner M, Connors LH, Falk RH, Cohen AS, Kyle RA. Selective binding of nifedipine to amyloid fibrils. *The American Journal of Cardiology.* 1985;55(13):1646. doi:10.1016/0002-9149(85)90996-8

115. Ruberg FL, Berk JL. Transthyretin (TTR) Cardiac Amyloidosis. *Circulation.* 2012;126(10):1286-1300. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.078915

116. Feng D, Syed IS, Martinez M, et al. Intracardiac Thrombosis and Anticoagulation Therapy in Cardiac Amyloidosis. *Circulation.* 2009;119(18):2490-2497. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.785014

117. Castaño A, Drachman BM, Judge D, Maurer MS. Natural history and therapy of

TTR-cardiac amyloidosis: emerging disease-modifying therapies from organ transplantation to stabilizer and silencer drugs. *Heart Fail Rev.* 2015;20(2):163-178. doi:10.1007/s10741-014-9462-7

118. Outcome and incidence of appropriate implantable cardioverter-defibrillator therapy in patients with cardiac amyloidosis. *Int J Cardiol.* 2016;222:562-568. doi:10.1016/j.ijcard.2016.07.254

119. Palladini G, Merlini G. What is new in diagnosis and management of light chain amyloidosis? *Blood.* 2016;128(2):159-168. doi:10.1182/blood-2016-01-629790

120. Palladini G, Sachchithanatham S, Milani P, et al. A European collaborative study of cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone in upfront treatment of systemic AL amyloidosis. *Blood.* 2015;126(5):612-615. doi:10.1182/blood-2015-01-620302

121. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2016 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *Am J Hematol.* 2016;91(9):947-956. doi:10.1002/ajh.24433

122. 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(9):1847-1854. doi:10.1097/TP.0000000000000574

123. Liepnieks JJ, Zhang LQ, Benson MD. Progression of transthyretin amyloid neuropathy after liver transplantation. *Neurology.* 2010;75(4):324-327. doi:10.1212/WNL.0b013e3181ea15d4

124. Sack FU, Kristen A, Goldschmidt H, et al. Treatment options for severe cardiac amyloidosis: heart transplantation combined with chemotherapy and stem cell transplantation for patients with AL-amyloidosis and heart and liver transplantation for patients with ATTR-amyloidosis☆. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008;33(2):257-262. doi:10.1016/j.ejcts.2007.10.025

125. Adams D, Gonzalez-Duarte A, O’Riordan WD, et al. Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med.* 2018;379(1):11-21. doi:10.1056/NEJMoa1716153

126. Coelho T, Adams D, Silva A, et al. Safety and Efficacy of RNAi Therapy for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med.* 2013;369(9):819-829. doi:10.1056/NEJMoa1208760

127. Suhr OB, Coelho T, Buades J, et al. Efficacy and safety of patisiran for familial amyloidotic polyneuropathy: a phase II multi-dose study. *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10(1):109. doi:10.1186/s13023-015-0326-6
128. Maurer MS, Fontana M, Berk J, et al. Primary Results From Apollo-B, A Phase 3 Study Of Patisiran In Patients With Transthyretin-Mediated Amyloidosis With Cardiomyopathy. *J Card Fail*. 2023;29(4):550. doi:10.1016/j.cardfail.2022.10.013
129. Ackermann EJ, Guo S, Benson MD, et al. Suppressing transthyretin production in mice, monkeys and humans using 2nd-Generation antisense oligonucleotides. *Amyloid*. 2016;23(3):148-157. doi:10.1080/13506129.2016.1191458
130. Benson MD, Waddington-Cruz M, Berk JL, et al. Inotersen Treatment for Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2018;379(1):22-31. doi:10.1056/NEJMoa1716793
131. Dasgupta NR, Rissing SM, Smith J, Jung J, Benson MD. Inotersen therapy of transthyretin amyloid cardiomyopathy. *Amyloid*. 2020;27(1):52-58. doi:10.1080/13506129.2019.1685487
132. Coelho T, Maia LF, Martins da Silva A, et al. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: A randomized, controlled trial. *Neurology*. 2012;79(8):785-792. doi:10.1212/wnl.0b013e3182661eb1.
133. Sekijima Y, Dendle MA, Kelly JW. Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis. *Amyloid*. 2006;13(4):236-249. doi:10.1080/13506120600960882
134. Berk JL, Suhr OB, Obici L, et al. Repurposing Diflunisal for Familial Amyloid Polyneuropathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2013;310(24):2658. doi:10.1001/jama.2013.283815
135. Castaño A, Helmke S, Alvarez J, Delisle S, Maurer MS. Diflunisal for ATTR Cardiac Amyloidosis: diflunisal for ATTR cardiac amyloidosis. *Congest Heart Fail*. 2012;18(6):315-319. doi:10.1111/j.1751-7133.2012.00303.x
136. Cardoso I, Martins D, Ribeiro T, Merlini G, Saraiva MJ. Synergy of combined Doxycycline/TUDCA treatment in lowering Transthyretin deposition and associated

biomarkers: studies in FAP mouse models. *J Transl Med.* 2010;8(1):74. doi:10.1186/1479-5876-8-74

137. Johnson SM, Wiseman RL, Sekijima Y, Green NS, Adamski-Werner SL, Kelly JW. Native State Kinetic Stabilization as a Strategy To Ameliorate Protein Misfolding Diseases: A Focus on the Transthyretin Amyloidoses. *Acc Chem Res.* 2005;38(12):911-921. doi:10.1021/ar020073i

138. Coelho T, Merlini G, Bulawa CE, et al. Mechanism of Action and Clinical Application of Tafamidis in Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *Neurol Ther.* 2016;5(1):1-25. doi:10.1007/s40120-016-0040-x

139. Bulawa CE, Connelly S, DeVit M, et al. Tafamidis, a potent and selective transthyretin kinetic stabilizer that inhibits the amyloid cascade. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109(24):9629-9634. doi:10.1073/pnas.1121005109

140. Rappley I, Monteiro C, Novais M, et al. Quantification of Transthyretin Kinetic Stability in Human Plasma Using Subunit Exchange. *Biochemistry.* 2014;53(12):1993-2006. doi:10.1021/bi500171j

141. vyndaqel-epar-product-information\_en. Accessed September 25, 2023. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vyndaqel-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vyndaqel-epar-product-information_en.pdf)

142. Schmidt HHJ. Tafamidis for the treatment of transthyretin-associated familial amyloid polyneuropathy. *Expert Opin Orphan Drugs.* 2013;1(10):837-845. doi:10.1517/21678707.2013.841576

143. EMA. Vyndaqel. European Medicines Agency. Published September 17, 2018. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vyndaqel>

144. Commissioner O of the. FDA approves new treatments for heart disease caused by a serious rare disease, transthyretin mediated amyloidosis. FDA. Published March 24, 2020. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-treatments-heart-disease-caused-serious-rare-disease-transthyretin-mediated>

145. Vong C, Boucher M, Riley S, Harnisch LO. Modeling of Survival and Frequency of Cardiovascular-Related Hospitalization in Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy Treated with Tafamidis. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2021;21(5):535-543.



doi:10.1007/s40256-021-00464-y

146. Nakamura M, Imamura T, Ushijima R, Kinugawa K. Prognostic Impact of the Increase in Cardiac Troponin Levels during Tafamidis Therapy in Patients with Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *J Clin Med.* 2023;12(14):4631. doi:10.3390/jcm12144631

147. Maeda-Ogata S, Tahara N, Tahara A, et al. Treatment response to Tafamidis quantitatively assessed by serial bone scintigraphy in transthyretin amyloid cardiomyopathy. *J Nucl Cardiol.* 2023;30(1):403-404. doi:10.1007/s12350-022-03137-8

148. Bellevre D, Bailliez A, Maréchaux S, Manrique A, Mouquet F. First Follow-Up of Cardiac Amyloidosis Treated by Tafamidis, Evaluated by Absolute Quantification in Bone Scintigraphy. *JACC Case Rep.* 2021;3(1):133-135. doi:10.1016/j.jaccas.2020.11.036

149. Bennett JA, Riegel B, Bittner V, Nichols J. Validity and reliability of the NYHA classes for measuring research outcomes in patients with cardiac disease. *Heart Lung.* 2002;31(4):262-270. doi:10.1067/mhl.2002.124554