



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

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

**PATTERNS DI LATE GADOLINIUM ENHANCEMENT
NELL'AMILOIDOSI CARDIACA: UNO STUDIO DI
RISONANZA MAGNETICA**

RELATORE: Prof. Alberto Cipriani

CORRELATRICE: Dott.ssa Laura De Michieli

LAUREANDO: Andrea Pauro

MATRICOLA: 1170658

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

INDICE

1. RIASSUNTO	1
2. INTRODUZIONE	5
2.1 Definizione	5
2.2 Classificazione.....	5
2.3 Epidemiologia	7
2.4 Fisiopatologia	8
2.5 Iter diagnostico	12
2.5.1 Sospetto	12
2.5.2 Diagnosi: criteri e algoritmo	14
2.6 Clinica	17
2.7 Test di laboratorio	20
2.7.1 Dosaggio delle catene leggere libere sieriche	20
2.7.2 SPEP e IFE sierica e urinaria	22
2.7.3 Spettrometria di massa, IHC e immunoelettromicroscopia	23
2.7.4 Biomarcatori cardiaci	24
2.8 ECG	29
2.9 Imaging.....	34
2.9.1 Ecocardiogramma	34
2.9.2 Risonanza magnetica cardiaca	39
2.9.3 Scintigrafia con radiotracciante osteotropico.....	43
2.9.4 Tomografia a emissione di positroni (PET).....	46
2.10 Biopsia.....	47
2.11 Prognosi.....	50
2.12 Follow-up	52
2.13 Terapia.....	53
3. SCOPO DELLO STUDIO	57
4. MATERIALI E METODI	58
4.1 Popolazione dello studio	58
4.2 Raccolta dati	59
4.3 Analisi statistica	66

5. RISULTATI	67
5.1 Dati demografici.....	67
5.2 Dati clinico-anamnestici.....	70
5.3 Dati laboratoristici.....	72
5.4 Dati elettrocardiografici.....	72
5.5 Dati di risonanza magnetica cardiaca.....	75
5.6 Analisi di sopravvivenza.....	84
5.7 Correlati clinici e biumorali di pattern atipico.....	88
5.8 Dati istologici.....	89
6. DISCUSSIONE	91
6.1 Dati demografici.....	91
6.2 Dati clinico-anamnestici.....	92
6.3 Dati laboratoristici.....	93
6.4 Dati elettrocardiografici.....	93
6.5 Dati di CMR.....	94
6.6 Curve di sopravvivenza.....	95
6.7 Correlati clinici e biumorali di pattern atipico.....	97
6.8 Dati istologici.....	97
6.9 Limiti dello studio.....	98
7. CONCLUSIONI	99
8. BIBLIOGRAFIA	100

1. RIASSUNTO

Introduzione. L'amiloidosi è una patologia infiltrativa caratterizzata dalla deposizione di fibrille di amiloide nello spazio extracellulare. Si tratta di una patologia sistemica, in cui il coinvolgimento cardiaco è il maggior determinante di sopravvivenza. Le due forme che più frequentemente colpiscono il cuore sono l'amiloidosi da catene leggere (AL) e quella da transtiretina (ATTR). Una diagnosi precoce dell'amiloidosi cardiaca (AC) è indispensabile per migliorare la prognosi dei pazienti affetti.

Scopo dello studio. Lo scopo di questo studio è quello di caratterizzare il coinvolgimento cardiaco in AL e ATTR attraverso imaging di risonanza magnetica cardiaca (RMC). In particolare, con analisi dei diversi patterns di late gadolinium enhancement e loro correlati clinico-laboratoristici, istologici e prognostici.

Materiali e metodi. Studio osservazionale retrospettivo di pazienti con ATTR-AC e AL-AC valutati presso l'Ambulatorio dell'Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova e sottoposti ad almeno una RMC tra il 2013 e il 31 dicembre 2022. Sono stati raccolti dati clinico-anamnestici, di RMC e di follow-up (considerando il 31 maggio 2023 come ultima data di *censoring*). LGE con pattern subendocardico o transmurale è stato definito come LGE tipico, LGE assente o con pattern non tipico come LGE atipico. Gli end-points erano la mortalità per tutte le cause e i ricoveri per scompenso.

Risultati. Sono stati inclusi 95 pazienti, di cui 19 (20%) femmine e con età 76 (70-80) anni; 38 (40%) pazienti erano affetti da AL-AC e 57 (60%) da ATTR-AC. Alla RMC, 67 (71%) pazienti presentavano un pattern LGE tipico, mentre 28 (30%) un pattern LGE atipico. Il pattern LGE atipico è risultato più frequente in AL-AC rispetto ad ATTR-AC [19 (50%) vs 9 (16%), $p < 0,001$]. Il numero di RMC effettuate nei pazienti con ATTR-AC (3-14-40 rispettivamente negli anni <2016, 2017-2019 e >2020) è aumentato progressivamente. La percentuale di pazienti con pattern di LGE atipico era del 33% negli esami eseguiti prima del 2016, e del 14% e 15% nei periodi 2017-2019 e >2020. Tra i pazienti con forma ATTR, un pattern atipico era

presente solo in stadi lievi di malattia (9/9 in stadio NAC 1); tra i pazienti con forma AL è stato riscontrato anche in stadi più avanzati [67% di quelli in stadio Mayo Clinic 2 e 23% in stadio 3]. I pazienti con pattern LGE atipico, rispetto a LGE tipico, hanno dimostrato alla RMC una minor massa del ventricolo sinistro [67 (54-76) g/m² vs 93 (76-111) p<0,001] e migliori parametri di funzionalità atriale e biventricolare, inclusi una maggior escursione sistolica dell'anulus mitralico laterale e settale [11,7 (9.2-14.5) mm vs 8.9 (6.2-10.4) mm e 9,5 (7.7-12.1) mm vs 6.7 (4.9-8.1) rispettivamente, p<0,001] e miglior strain longitudinale [-12 (-10, -15)% vs -8(-6, -9)%, p<0,001]. I pazienti con pattern LGE atipico presentavano inoltre valori di T1 mapping [1089 (1064-1120) ms vs 1153 (1124, 1180) ms, p=0.001] e di volume extracellulare [36 (34-41)% vs 48 (42, 53)%, p=0.0037] inferiori. Agli esami ematochimici, i pazienti con pattern LGE atipico presentavano valori di troponina I ad alta sensibilità (hs-cTnI) inferiori [37 (15-87) ng/L vs 78 (41-190) ng/L, p=0.004]. All'analisi multivariata, la forma AL [OR 9.3 (IC 95% 2,9-29,6, p <0,001] e una hs-cTnI > 60 ng/L [OR 0.20 (IC 95% 0.06 – 0.65)] sono risultati correlati alla presenza di pattern LGE atipico alla RMC. Rispetto ai pazienti con LGE tipico, coloro con pattern LGE atipico presentavano un minor burden di infiltrazione amiloide alla biopsia endomiocardica [3% (IQR 3-12%) vs 18% (IQR 13-45%) p=0,034]. Durante un follow-up mediano di 24 (15-44) mesi, non è stata riscontrata una differenza significativa in termini di mortalità (Log Rank p=0,650) tra pattern LGE tipico e atipico, anche se vi era un trend di prognosi migliore nei pazienti con ATTR-AC e pattern atipico. I pazienti con pattern LGE atipico presentavano meno frequentemente ricoveri per scompenso (Log Rank p=0.024), con una simile tendenza anche nelle due sottopopolazioni analizzate separatamente.

Conclusioni. Nei pazienti con AC, il pattern LGE atipico è un riscontro più comune nella forma AL. Nelle forme ATTR, il pattern LGE atipico, laddove presente, sembra un reperto associato ad uno stadio lieve di malattia, al contrario delle forme AL in cui invece può essere riscontrato anche nelle forme avanzate. Dal punto di vista prognostico, il pattern di LGE atipico appare un fattore prognostico favorevole nelle ATTR, ma non nelle AL. In entrambe le popolazioni, LGE atipico è tendenzialmente associato ad un minor rischio di scompenso cardiaco.

ABSTRACT

Introduction. Amyloidosis is an infiltrative disease caused by the deposition of amyloid fibrils in the extracellular space. It is a systemic disease, in which cardiac involvement is the major determinant of survival. The two forms that most frequently affect the heart are light chain amyloidosis (AL) and transthyretin amyloidosis (ATTR). Early diagnosis of cardiac amyloidosis (CA) is imperative to improve the prognosis of affected patients.

Purpose of the study. The aim of this study is to characterize cardiac involvement in AL and ATTR through cardiac magnetic resonance imaging (CMR). In particular, with analysis of the different patterns of late gadolinium enhancement and their clinical-laboratory, histological and prognostic correlates.

Material and methods. Retrospective observational study of patients with ATTR-AC and AL-AC evaluated at the Cardiac Amyloidosis Outpatient Department of the University Hospital of Padua and underwent at least one CMR between 2013 and December 31, 2022. Clinical-anamnestic, CMR and follow-up data were collected (considering May 31, 2023 as the last censoring date). LGE with subendocardial or transmural pattern was defined as typical LGE, absent LGE, or with nontypical pattern as atypical LGE. The end points were all-cause mortality and heart failure hospitalizations.

Results. 95 patients were included, of which 19 (20%) were female and aged 76 (70-80) years; 38 (40%) patients were affected by AL-AC and 57 (60%) by ATTR-AC. On CMR, 67 (71%) patients had a typical LGE pattern and 28 (30%) an atypical LGE pattern. The atypical LGE pattern was more frequent in AL-AC than in ATTR-AC (19 (50%) vs 9 (16%), $p < 0,001$). The number of CMRs performed in patients with ATTR-AC (3-14-40 in the years <2016, 2017-2019 and >2020 respectively) increased progressively. The percentage of patients with an atypical LGE pattern was 33% in exams performed before 2016, and 14% and 15% in the periods 2017-2019 and >2020. Among patients with the ATTR form, an atypical pattern was present only in mild stages of disease (9/9 in NAC stage 1); among

patients with AL form it was also found in more advanced stages [67% of those in Mayo Clinic stage 2 and 23% in stage 3). Patients with atypical LGE pattern, compared with typical LGE, demonstrated lower left ventricular mass on CMR [67 (54-76) g/m² vs 93 (76-111) p<0,001] and better atrial function parameters and biventricular, including increased lateral and septal mitral annulus systolic excursion [11,7 (9,2-14,5) mm vs 8,9 (6,2-10,4) mm and 9,5 (7,7-12,1) mm vs 6,7 (4,9-8,1) respectively , p<0,001] and best longitudinal strain [-12 (-10, -15)% vs -8(-6, -9)%, p<0,001]. Patients with atypical LGE pattern also had lower T1 mapping values [1089 (1064-1120) ms vs 1153 (1124, 1180) ms, p=0,001] and extracellular volume [36 (34-41)% vs 48 (42, 53)%, p=0,0037]. On blood tests, patients with atypical LGE pattern had lower high sensitivity troponin I (hs-cTnI) values [37 (15-87) ng/L vs 78 (41-190) ng/L, p=0,004]. In multivariate analysis, the AL form [OR 9.3 (95% CI 2.9-29.6, p <0.001] and hs-cTnI > 60 ng/L [OR 0.20 (95% CI 0.06 – 0.65)] were related to the presence of atypical LGE pattern on CMR. Compared to patients with typical LGE, those with atypical LGE pattern had a lower burden of amyloid infiltration on endomyocardial biopsy [3% (IQR 3-12%) vs 18% (IQR 13-45 %) p=0.034]. During a median follow-up of 24 (15-44) months, there was no significant difference in terms of mortality (Log Rank p=0,650) between typical and atypical LGE patterns, although there was a trend of better prognosis in the patients with ATTR-AC and atypical pattern. Patients with atypical LGE pattern had less frequent hospitalizations for heart failure (Log Rank p=0,024), with a similar trend also in the two subpopulations analyzed separately.

Conclusions. In patients with AC, the atypical LGE pattern is a more common finding in the AL form. In ATTR forms, the atypical LGE pattern, where present, appears to be a finding associated with a mild stage of the disease, unlike in AL forms where it can also be found in advanced forms. From a prognostic point of view, the atypical LGE pattern appears to be a favorable prognostic factor in ATTR, but not in AL. In both populations, atypical LGE tended to be associated with a lower risk of heart failure.

2. INTRODUZIONE

2.1 Definizione

Con il termine di amiloidosi si intende una condizione patologica causata dalla deposizione a livello extracellulare di fibrille di amiloide. Quest'ultime sono composte da proteine mal ripiegate che, una volta divenute insolubili, precipitano e si accumulano nell'interstizio dei tessuti di vari organi. È pertanto una patologia a carattere infiltrativo e a coinvolgimento potenzialmente multiorgano.¹ Tra i principali bersagli vi sono rene, fegato, sistema nervoso autonomo e soprattutto il cuore: ciò ha una forte valenza clinica, in quanto si manifesta con i sintomi tipici di una progressiva disfunzione del muscolo cardiaco e con disturbi aritmici che riducono significativamente la qualità di vita, e prognostica, poiché dal grado di severità del coinvolgimento cardiaco e dalla tempestività del trattamento dipenderà la sopravvivenza del paziente.

2.2 Classificazione

La classificazione della patologia amiloidotica pone le proprie basi sull'eziologia. Può essere sistemica, ossia la proteina amiloidogena viene prodotta in un sito (es. fegato) e si deposita in siti distanti (es. cuore, reni), oppure localizzata, cioè quando sia la produzione che la deposizione di amiloide si verificano nello stesso sito.¹ Più di 30 proteine sono state riconosciute come in grado di esitare nell'aggregazione di fibrille di amiloide *in vivo*, tuttavia, quelle capaci di recare un danno a livello miocardico sono essenzialmente 9.²

Nell'ambito dell'amiloidosi localizzata si distinguono varie forme clinico-patologiche. Tra queste la più famosa è il morbo di Alzheimer: la protagonista principale del danno cerebrale è infatti la proteina APP, dalla quale nel processo di clivaggio viene prodotta la proteina A β 42, detta anche beta-amiloide; essa è

insolubile e, precipitata a livello extracellulare neuronale, si accumula e induce sofferenza e morte cellulare.³ Un meccanismo simile si può osservare anche in altre forme neurologiche: la malattia di Parkinson, nella quale all'origine vi è il mal ripiegamento e la precipitazione dell' α -sinucleina a livello dei gangli della base e della *substantia nigra*, con i conseguenti classici sintomi e segni di tipo extrapiramidale; l'angiopatia amiloide cerebrovascolare, in cui la proteina beta-amiloide si accumula a livello della parete dei vasi di piccolo e medio calibro del sistema nervoso centrale; la malattia di Huntington, in cui la ripetizione della tripletta CAG nel gene della *huntingtina* causa l'accumulo della stessa (a livello però intraneuronale) causando movimenti coreutici, sintomi neuropsichiatrici e deterioramento cognitivo progressivo.^{4,5,6} Ulteriori forme localizzate possono colpire organi come le vie respiratorie, urinarie, gastrointestinali, nelle quali il danno è causato dalla produzione di catene leggere delle immunoglobuline da parte del tessuto linfoide locale, oppure la cute, dove alcune isoforme di cheratina sono prone all'accumulo.

Nell'ambito dell'amiloidosi sistemica, invece, si parla essenzialmente di quattro forme: l'amiloidosi primaria, detta anche AL, causata dall'iperproduzione delle catene leggere delle immunoglobuline; l'amiloidosi ATTRwt, detta anche senile, dovuta al mal ripiegamento della transtiretina wild-type causato dall'invecchiamento; l'amiloidosi ereditaria, in cui si ha la presenza di mutazioni su geni di numerose proteine, tra le quali la principale è la transtiretina; l'amiloidosi secondaria, forma molto rara e conseguente al deposito della amiloide sierica A, una proteina di fase acuta, in seguito a infezioni (tubercolosi, bronchiectasie, lebbra, osteomielite) o patologie infiammatorie croniche predisponenti (es. artrite reumatoide, artrite idiopatica giovanile, morbo di Crohn, febbre mediterranea familiare, malattia di Castleman).

Entrando nel merito del coinvolgimento cardiaco, le tre forme principali dominanti sono l'amiloidosi AL (catene leggere delle immunoglobuline), l'amiloidosi ATTRwt (transtiretina wild-type) e l'amiloidosi ATTRv (transtiretina mutata). Si pensi che queste tre entità rappresentano più del 98% dei casi. Nella restante parte, molto rare sono le forme acquisite di amiloidosi AA, AApoAIV (apolipoproteina

A-IV) e A β 2M (β 2microglobulina), e le forme ereditarie AFib (fibrinogeno α), AApoAI (apolipoproteina A-I), AApoAII (apolipoproteina A-II) e AGel (gelsolina).²

2.3 Epidemiologia

Gli studi epidemiologici sull'amiloidosi cardiaca sono stati svolti principalmente negli USA e si ha una differenza tra le varie forme.

L'amiloidosi AL può essere considerata una condizione piuttosto rara, con una incidenza di circa 2500-5000 nuovi casi per anno.⁷ Secondo alcuni studi recenti, nel periodo 2007-2015 vi è stato un incremento di incidenza e prevalenza, soprattutto in individui con età corrispondente alla fascia 18-64 anni.⁸

Per quanto riguarda la forma ATTR ereditaria, essa è causata da una mutazione genetica che predispone all'instabilità del tetramero della transtiretina. Le mutazioni amiloidogeniche scoperte sono più di 120 e, fra queste, alcune varianti sono endemiche in specifiche regioni geografiche e gruppi etnici. Inoltre differenti mutazioni si associano a differenti età di insorgenza e differenti livelli di rischio di sviluppo della cardiomiopatia. Le varianti associate ad un fenotipo principalmente cardiaco sono la Ile68Leu e la Leu111Met, la più descritta in assoluto è la Val30Met e la più frequente è la Val122Ile.^{9,10}

Riguardo l'amiloidosi ATTRwt, i dati del registro THAOS dimostrano come colpisca soprattutto uomini anziani con età sopra i 60 anni. Il coinvolgimento in questo caso è soprattutto cardiaco, caratteristica peculiare dell'amiloidosi senile.¹¹

Andando a parlare dell'amiloidosi cardiaca in generale, i dati provengono perlopiù da studi unicentrici o da registri di popolazione e, stando ad uno studio recente, dal 2000 al 2012 vi è stato un aumento di incidenza e prevalenza della patologia nei pazienti di 65 anni d'età. Inoltre, tra quelli ospedalizzati con scompenso cardiaco, non c'era differenza di sesso e l'85% era di etnia caucasica.¹²

Recentemente una metanalisi effettuata su 31 studi, suddivisi in base a precisi criteri (es. scintigrafia, HFpEF, disordini di conduzione ecc.), ha provato a dare una stima epidemiologica più precisa. Il valore di prevalenza considerato più attendibile è stato di 1% in soggetti sottoposti a scintigrafia ossea per ragioni non cardiache; esso però aumentava, con diverse variazioni, se correlato a scompenso cardiaco (in particolare HFpEF), disordini di conduzione, intervento chirurgico per sindrome del tunnel carpale, cuori con fenotipo di cardiomiopatia ipertrofica, chirurgia tramite SAVR e TAVR per stenosi aortica. Negli studi con dati disponibili, la percentuale media di pazienti maschi coinvolti subiva forti variazioni anche se questi rappresentavano generalmente la maggioranza; l'età generalmente è avanzata e supera i 65-70 anni. È importante notare come la sindrome del tunnel carpale sia fortemente associata ad un maggior rischio di amiloidosi cardiaca. Un altro studio ha prima cercato le mutazioni alla transtiretina, che sono state trovate nel 3,5% dei soggetti. Una valutazione aggregata degli studi autoptici, infine, ha rilevato una prevalenza globale del 21%.¹³

In conclusione si può affermare che l'amiloidosi cardiaca sia una patologia ancora sottodiagnosticata, ma non così rara come si pensava fino a non molto tempo addietro. La prevalenza aumenta con l'età, colpisce più frequentemente i maschi, anche se le femmine possono esserne affette, ed è spesso riscontrata in concomitanza ad altre condizioni che possono fungere da *red flags*.

2.4 Fisiopatologia

Come precedentemente detto, l'amiloidosi cardiaca è caratterizzata dal mal ripiegamento, aggregazione e successiva deposizione in sede extracellulare di fibrille di amiloide. Le proteine formanti le fibrille si piegano in modo inappropriato per svariati motivi (*figura 1*): alcune sono intrinsecamente predisposte a ripiegarsi e depositarsi quando presenti ad alte concentrazioni o quando il paziente invecchia (è il caso ad esempio della transtiretina); altre si ripiegano male a causa di un'alterazione o mutazione che coinvolge i geni codificanti la proteina; una terza

via è rappresentata da un rimodellamento proteolitico anomalo che causa un cambiamento conformazionale della proteina precursore, rendendo più probabile l'errato ripiegamento. Un dubbio che può sorgere è il seguente: come distinguere le fibrille amiloidi dal materiale proteico già presente a livello extracellulare, come ad esempio il collagene? Un tratto distintivo è che le prime non sono ramificate. Inoltre le fibrille possiedono una struttura secondaria a foglietto- β che consente la caratteristica colorazione con Rosso Congo.¹⁴ Andremo ora a focalizzarci sulle diverse forme di amiloidosi cardiaca.

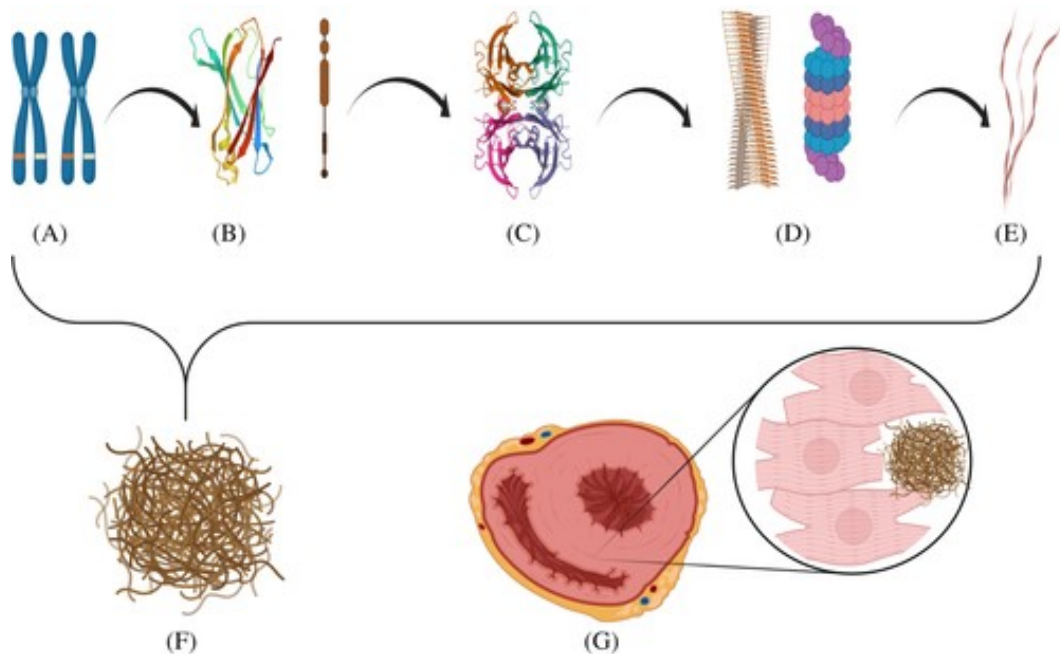


FIGURA 1: nell'immagine si possono vedere le varie fasi di sviluppo, aggregazione e accumulo di fibrille amiloide nello spazio extracellulare del miocardio, con esiti di ipertrofia e cardiomegalia. La formazione di amiloide può derivare da errori nella fase: (a) Geni che codificano per la proteina transtiretina sul cromosoma 18; (b) Sintesi del monomero di transtiretina; (c) Formazione di tetrameri di transtiretina; (d) Dissociazione dei tetrameri (e monomeri) della transtiretina con successiva scissione proteolitica che porta alla formazione di fibrilla amiloide; (e) Fibre beta amiloidi composte da fibrille amiloidi; (f) Le fibre amiloidi vanno incontro ad aggregazione formando amiloide; (g) Cardiomegalia come risultato della deposizione di amiloide nello spazio extracellulare del miocardio.

L'ATTR è la forma di amiloidosi in cui la transtiretina, una proteina fisiologica sintetizzata principalmente dal fegato, si ripiega erroneamente in conformazione foglietto- β , diventando insolubile, e si deposita come amiloide nello spazio extracellulare del miocardio. Va sottolineato come la transtiretina (TTR) sia sempre presente nel siero e abbia il ruolo fisiologico di trasportare retinolo e tiroxina. La propensione al ripiegamento e all'aggregazione a formare fibre amiloidi insolubili può essere favorita da una mutazione a singolo punto: questo è il caso dell'ATTR ereditaria (ATTRv). Essa è una rara condizione autosomica dominante in cui le diverse mutazioni del gene possono variare in quanto a penetranza e, talvolta, presentazione clinica. Le varianti più comuni associate al coinvolgimento cardiaco sono Val122Ile (V122I o pV142I), Val30Met (V30M o pV50M) e Thr60Ala (T60A o pT80A). Mentre Val30Met è la mutazione più comune nel resto del mondo, negli Stati Uniti è più frequente la Val122Ile (tuttavia è difficile sapere quanto questo dato sia accurato). Il discorso patogenetico generale sull'ATTR "wild type" (ATTRwt) è analogo a quello sull'ATTRv, tranne per il fatto che non è ereditaria ma sporadica e che, pertanto, la proteina precursore è transtiretina strutturalmente normale. In passato era nota come "amiloidosi sistemica senile", con un target costituito quasi esclusivamente da uomini di età superiore ai 60 anni.¹⁴

L'amiloidosi a catena leggera, invece, è osservata quasi esclusivamente in individui di età inferiore ai precedenti, ma comunque superiore ai 40 anni e non mostra differenza tra i sessi. Può essere causata da una discrasia plasmacellulare che può verificarsi in modo isolato, come nel caso della AL primaria, o essere associata a mieloma multiplo, linfoma a cellule B, macroglobulinemia di Waldenström e altre. Nella primaria, si ha una dominanza monoclonale di un isotipo a catena leggera nel 5-10% delle plasmacellule del midollo osseo, le quali provocano la sovrapproduzione di catene leggere λ o κ anomale; queste vanno incontro a *misfolding*, diventano insolubili e si depositano nei tessuti. Le catene leggere libere di tipo λ predominano nella AL primaria rispetto alle κ con un rapporto di 3:1. Al contrario nel mieloma multiplo e in altre discrasie plasmacellulari, le catene leggere κ tendono ad essere superiori, con un rapporto λ/κ di 1:2. Per quanto riguarda l'infiltrazione delle strutture cardiache, si ipotizza che i tessuti vengano danneggiati in due modi: il primo è caratterizzato dai depositi di AL nello spazio extracellulare

miocardico e dei vasi sanguigni coronarici, provocando necrosi dei cardiomiociti e fibrosi interstiziale (meccanismo simile ad altri tipi di amiloidosi); il secondo si pensa sia dovuto alla proprietà miotossica della stessa catena leggera libera circolante che porta allo stress ossidativo (meccanismo unico della forma AL). È stato dimostrato infatti nei cardiomiociti di ratto che le catene leggere amiloidogeniche causano un aumento delle specie reattive cellulari dell'ossigeno e una sovraregolazione dell'eme ossigenasi, in associazione a compromissione della fase contrattile e di rilassamento. Questo effetto tossico è stato bloccato da agenti antiossidanti. In altri esperimenti in pazienti con amiloidosi a livello subcellulare, si è visto un effetto a cascata che cominciava con disfunzione lisosomiale, compromissione dell'autofagia ed aumento dei livelli di ROS, disfunzione cellulare, alterata omeostasi del calcio e morte cellulare. L'amiloidosi cardiaca AL, pertanto, può essere considerata una cardiomiopatia sia infiltrativa che tossica.^{14,15,16}

Infine, la proteina precursore per l'amiloidosi secondaria è l'amiloide A sierica, una proteina infiammatoria. Non a caso, infatti, l'amiloidosi secondaria si verifica più comunemente nel contesto di un processo infiammatorio cronico: è stata riconosciuta in concomitanza con l'artrite reumatoide, la febbre mediterranea familiare, le IBD o in corso di infezioni croniche come la tubercolosi, le bronchiectasie o la lebbra. Va precisato tuttavia che in questi ultimi casi il disturbo infiammatorio sottostante non è obbligatorio. Per questo motivo, l'amiloidosi secondaria è piuttosto rara nei paesi sviluppati come il nostro e coinvolge tendenzialmente l'apparato renale, mentre il miocardio è raramente colpito.¹⁴

2.5 Iter diagnostico

L'amiloidosi cardiaca è una patologia che si sta imparando a conoscere meglio solo di recente pur essendo ancora sottodiagnosticata, tuttavia è fondamentale riuscire a riconoscerne gli aspetti cardine al fine di una diagnosi precoce e tempestiva. Essa infatti porta il paziente ad una drastica riduzione della qualità di vita, caratterizzata da sintomi e segni clinici riconducibili alla disfunzione progressiva del muscolo cardiaco e a ripetuti episodi di scompenso cardiaco acuto con conseguente ospedalizzazione, prognosi infausta e aumento della mortalità. L'iter è costituito da due fasi: la prima è quella del sospetto (2.5.1); la seconda è quella della diagnosi definitiva (2.5.2), la quale include l'appropriata tipizzazione dell'amiloide, elemento fondamentale ai fini terapeutici.¹⁷

2.5.1 Sospetto

Scendendo in ambito più pratico, la domanda da porsi è la seguente: quali possono essere i segnali d'allarme indicativi della presenza della patologia? La risposta è che nella fase del sospetto diagnostico esistono le *red flags*, ossia segni e sintomi extracardiaci che sono estremamente utili soprattutto in presenza di risultati di imaging cardiaco compatibili, in quanto da soli sono poco specifici e talvolta poco sensibili. Fra questi, alcuni sono riscontrabili specialmente nelle forme ereditarie e nella AL: polineuropatia e disturbi disautonomici, porpora periorbitaria e decolorazioni cutanee, cute lassa, macroglossia, depositi vetrosi, distrofia del reticolo corneale, insufficienza renale, proteinuria anche lieve, anamnesi familiare positiva; mentre sordità, sindrome del tunnel carpale, stenosi spinale lombare, rottura del tendine del bicipite sono più tipici della forma ATTRwt o eventualmente della ATTRv.^{17,20,21,22}

Esistono poi varie *red flags* di tipo cardiaco, le quali si possono riscontrare in tutte le forme di amiloidosi. Tra queste vanno annoverate: l'insufficienza cardiaca, con peptide natriuretico di tipo N-terminale pro B (NT-proBNP) sproporzionato rispetto ai reperti ecografici; l'insufficienza cardiaca destra non spiegabile in quanto la funzione ventricolare e valvolare appaiono "normali"; il versamento pericardico

idiopatico, senza causa apparente; l'aumento persistente delle troponine, che potrebbe portare a una falsa diagnosi di infarto miocardico; QRS a basso voltaggio, una malattia precoce del sistema di conduzione o pattern da pseudoinfarto all'ECG; alterazioni all'ecocardio o alla risonanza magnetica cardiaca, che potrebbero far pensare a una cardiomiopatia ipertrofica o ad un semplice HFpEF.¹⁷

Oltre alle *red flags* sono presenti delle situazioni cliniche nelle quali l'amiloidosi andrebbe considerata in diagnosi differenziale. Importante campanello d'allarme è la presenza di malattia cardiaca concomitante ad una condizione sistemica come la discrasia plasmacellulare, la sindrome nefrosica, la neuropatia periferica o infiammazioni sistemiche croniche, a maggior ragione se anche l'imaging cardiaco è compatibile. Va fortemente sospettata, inoltre, di fronte ad uno spessore di parete aumentato (≥ 12 mm) senza una dilatazione ventricolare: quest'ultimo è un segno caratteristico e rientra tra gli elementi di screening, soprattutto se ci si trova di fronte a pazienti d'età > 65 , con scompenso cardiaco, stenosi aortica e le *red flags* viste in precedenza. Nella *figura 2* sono riportate in completezza le caratteristiche dello screening.¹⁷

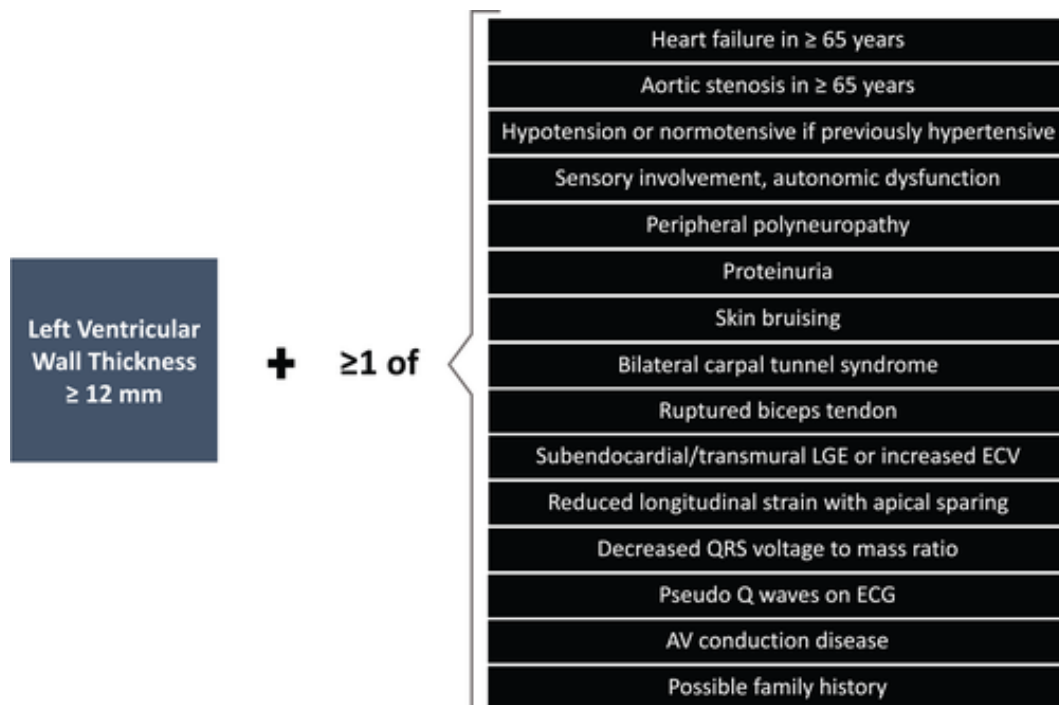


FIGURA 2: screening in caso di sospetto di amiloidosi cardiaca.

2.5.2 Diagnosi: criteri e algoritmo

Una volta confermati i sospetti, si passa alla fase della diagnosi definitiva. Essa può avvenire tramite metodiche invasive oppure non invasive: le prime hanno validità per tutte le forme di amiloidosi cardiaca, le seconde solamente per quella ATTR.

Per quanto riguarda l'approccio invasivo, l'indagine principale, che da sola se positiva fa diagnosi, è la biopsia endomiocardica: questa va ad individuare i depositi di amiloide, previa colorazione con rosso Congo, indipendentemente dal grado di spessore della parete ventricolare sinistra. Rimane comunque fondamentale in seguito procedere con la classificazione del tipo di fibrilla amiloide: il gold standard è rappresentato dalla spettrometria di massa, ma in alternativa possono essere utilizzate anche l'immunoistochimica o la microscopia immunoelettronica.²³ Una seconda metodica per confermare la diagnosi è l'esecuzione con esito positivo di una biopsia extracardiaca (es. a livello del grasso periombelicale) accompagnata da caratteristiche compatibili con amiloidosi cardiaca all'ecocardiografia, escludendo altre cause per l'aumento dello spessore della parete LV, o alla risonanza magnetica cardiaca.¹⁷

Come detto poc'anzi, l'amiloidosi cardiaca ATTR può essere diagnosticata con metodiche non invasive, in assenza quindi di istologia, tramite la combinazione dei seguenti risultati:

- scintigrafia con ^{99m}Tc-pirofosfato (PYP), ^{99m}Tc-3,3-difosfono-1,2-acido propanodicarbossilico (DPD) o ^{99m}Tc-idrossimetilene difosfonato (HMDP) che evidenzia un assorbimento miocardico di grado 2 o 3 del radiotracciante;
- negatività al dosaggio della catena leggera libera sierica (FLC), elettroforesi delle proteine del siero (SPIE) e delle urine (UPIE) con immunofissazione, ossia esclusione della discrasia clonale;
- reperti compatibili all'ecocardiografia o alla risonanza magnetica cardiaca.

La specificità dei tre parametri combinati e in presenza di sospetto per ATTR cardiaca arriva a quasi il 100%.²⁴ L'ultimo step dopo la conferma corrisponde alla distinzione tra ATTRwt e ATTRv tramite test genetico, il quale va svolto anche in pazienti anziani dato che a queste età possono comunque essere riscontrate

mutazioni. Nell'ambito dell'amiloidosi AL la combinazione di SPIE, UPIE e quantificazione della FLC sierica ha una sensibilità del 99% per identificare un precursore pro-amiloidotico anomalo.²⁵ È importante avvalersi sempre dell'immunofissazione per aumentare la sensibilità dei dosaggi. Inoltre bisogna fare attenzione nell'interpretazione dei livelli delle proteine monoclonali o del rapporto κ/λ . Questi infatti potrebbero essere alterati dalla presenza di malattia renale cronica o da gammopatia monoclonale di significato indeterminato: nel primo caso, al diminuire della velocità di filtrazione glomerulare (GFR), la clearance renale delle catene policlonali diminuisce e le concentrazioni sieriche aumentano.²⁶

In ultima istanza l'algoritmo diagnostico (*figura 3*), dunque, prevede la presenza iniziale di sospetto della patologia dato da segni e sintomi, ECG/ecocardiografia/CMR suggestivi. A questo fa seguito una doppia indagine non invasiva composta da scintigrafia ^{99m}Tc-PYP, DPD o HMDP e dosaggio delle proteine monoclonali mediante SPIE, UPIE e quantificazione delle catene leggere libere sieriche. In base ai risultati le possibilità che si aprono sono quattro:

- scintigrafia e dosaggio delle proteine monoclonali negative: la probabilità di amiloidosi cardiaca è molto bassa pertanto va presa in considerazione una diagnosi alternativa o, se il sospetto persiste, va considerata la risonanza magnetica cardiaca (CMR) seguita da biopsia cardiaca o extracardiaca. Si ponga attenzione al fatto che la scintigrafia ossea potrebbe essere negativa per via di alcune mutazioni di ATTRv o di altri rari sottotipi di amiloidosi cardiaca.
- scintigrafia di grado 2-3 e proteine monoclonali negative: si può confermare la diagnosi di amiloidosi cardiaca ATTR. L'ultimo step prevede il test genetico per differenziare tra le forme ATTRv e ATTRwt. Se l'uptake cardiaco è di grado 1, è necessario effettuare una biopsia extracardiaca (preferibilmente) o cardiaca, al fine di avere la conferma istologica dei depositi di amiloide.
- scintigrafia negativa e almeno uno dei test sulle proteine monoclonali positivo: l'amiloidosi AL va esclusa tramite CMR, la quale può essere utilizzata per confermare il coinvolgimento cardiaco. Se i risultati della CMR non supportano l'amiloidosi cardiaca, la diagnosi è molto improbabile. Nel caso in cui i risultati mantengano il sospetto ma siano inconcludenti, è necessaria biopsia cardiaca o

extracardiaca al fine di individuare le fibrille e diagnosticare l'amiloidosi cardiaca AL. È importante in quest'ultimo caso che la biopsia sia rivolta agli organi clinicamente coinvolti per evitare ritardi diagnostici. Se non è possibile svolgere una CMR in breve tempo, si può prendere in considerazione l'esecuzione diretta della biopsia. È importante in questo caso consultare un ematologo.²⁷

- scintigrafia e almeno uno dei test sulle proteine monoclonali positivi: in questo scenario sono possibili varie combinazioni, ossia amiloidosi ATTR con MGUS concomitante (o qualsiasi disturbo ematologico che produce FLC), amiloidosi AL singola o coesistenza di amiloidosi AL e ATTR. Risulta chiaro che ai fini della diagnosi, in tale frangente, vi sia bisogno di una indagine istologica con tipizzazione dell'amiloide. Si attua preferibilmente una biopsia endomiocardica.¹⁷

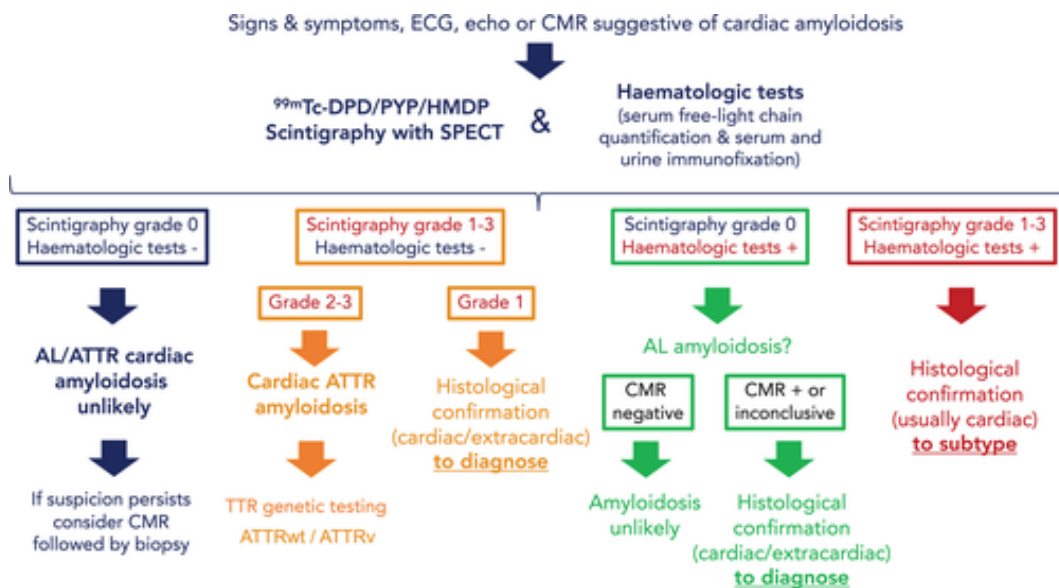


FIGURA 3: algoritmo diagnostico per l'amiloidosi cardiaca. ATTR, amiloidosi da transtiretina; ATTRv, amiloidosi ereditaria da transtiretina; ATTRwt, amiloidosi da transtiretina wild-type; AL, amiloidosi a catena leggera; CMR, risonanza magnetica cardiaca; ECG, elettrocardiogramma; SPECT, tomografia computerizzata a emissione di singolo fotone; TTR, transtiretina:

2.6 Clinica

L'amiloidosi è una patologia sistemica e, in quanto tale, può avere coinvolgimento multiorgano caratterizzato da un corteo sintomatologico corrispondente all'apparato colpito (*figura 4*). Tra i principali vi sono cuore, reni, sistema nervoso autonomo, fegato e tratto gastrointestinale; in misura minore polmoni, muscoli e tessuti molli. Ragionando sulla specifica forma di amiloidosi, l'ATTRwt ha come bersaglio prediletto il cuore, l'AL è più frequentemente multiorgano.

Andando nei dettagli, la manifestazione clinica più comune dell'amiloidosi cardiaca ATTRwt è lo scompenso cardiaco, specialmente a frazione di eiezione preservata (HFpEF). I segni e sintomi riscontrabili sono: dispnea da sforzo, ortopnea, dispnea parossistica notturna associati a crepitii all'auscultazione polmonare; elevata pressione venosa giugulare con evidente turgore; edemi agli arti inferiori (perimalleolari, pre-tibiali o diffusi). Va notato, tuttavia, che tale corteo clinico non è indice esclusivo di eziologia amiloidotica, in quanto questo genere di pazienti è tendenzialmente anziano e con diverse comorbidità altrettanto potenzialmente responsabili, pertanto ci si dovrà basare sul quadro clinico complessivo e sulla presenza di altre manifestazioni concomitanti.²⁸ Fra queste, si annoverano soprattutto quelle ortopedico-neurologiche, in particolare la sindrome del tunnel carpale. Essa, specie se bilaterale, deve far sospettare la deposizione di amiloide ed è un fattore di rischio incrementale per amiloidosi cardiaca ATTR, arrivando a precedere la diagnosi di addirittura 5-9 anni, e un fattore di rischio di mortalità indipendente.²⁹ Un'altra condizione è la stenosi spinale lombare, l'indicazione più comune per la chirurgia della schiena negli anziani. Infine la rottura del tendine del bicipite rappresenta un'ulteriore condizione ortopedica che è stata fortemente associata alla presenza di amiloidosi cardiaca ATTRwt. In una coorte di 111 pazienti con malattia ATTRwt confermata, la rottura del tendine del bicipite è stata osservata in 37 pazienti, ed è stato un risultato significativamente più comune nei pazienti con amiloidosi cardiaca da transtiretina rispetto ai pazienti con altre eziologie di HFpEF.³⁰ Ritornando all'ambito cardiaco si è visto che tra i pazienti con amiloidosi cardiaca ATTRwt può esserci una concomitante stenosi aortica e la stragrande maggioranza di questi possedeva sia fenotipo a basso flusso che a basso

gradiente, con una prognosi particolarmente sfavorevole ed una mortalità rilevante (circa 44% a 16 mesi).³¹ Inoltre spesso si osservano anche aritmie, angina e cachessia cardiaca. Tra le aritmie, una buona rilevanza ce l'ha la fibrillazione atriale. Nei pazienti con FA, infatti, i sintomi da scompenso sono più gravi così come i reperti ecocardiografici (peggiore funzione ventricolare sinistra e destra, pressioni più elevate dell'arteria polmonare e tassi più elevati di rigurgito mitralico) e sono presenti più comorbidità. La fibrillazione atriale ha anche dimostrato una relazione lineare con lo stadio di amiloidosi di tipo ATTR con prevalenza crescente dagli stadi I a III. Questi dati supportano una possibile associazione causale della fibrillazione atriale con depositi di amiloide, oltre ai fattori di rischio classici che spesso coesistono in pazienti di età avanzata.³² Altre manifestazioni sono date dalla neuropatia periferica, dall'ipotensione ortostatica e dai depositi vitreali.¹

Per quanto riguarda l'amiloidosi AL, di solito coinvolge buona parte degli organi vitali, quindi ci possono essere: danni cardiaci rappresentati da una cardiomiopatia di tipo restrittivo con insufficienza cardiaca e frazione di eiezione conservata (HFpEF); danni renali con albuminuria esitanti in insufficienza renale; danni ai tessuti molli con sindrome del tunnel carpale, macroglossia, masse palpabili, porpore periorbitarie; danni epatici con epatomegalia, elevazione della fosfatasi alcalina e alterazioni dei test di funzionalità epatica; danni al sistema nervoso periferico e autonomo, quali neuropatia periferica assonale sensitivo-motoria simmetrica che inizialmente causa perdita di sensibilità di temperatura e dolore e poi progredisce fino ad intorpidimento, debolezza e disequilibrio, o ancora ipotensione ortostatica, disfunzione erettile, costipazione e diarrea alternate; danni gastrointestinali con alterata motilità, sanguinamenti, malassorbimento; ipotiroidismo.³³ Fra tutti questi, assume maggior importanza il coinvolgimento cardiaco, in quanto ne è la principale causa di morbilità e mortalità, ed è indispensabile arrivare ad una diagnosi nel modo più tempestivo al fine di evitare l'irreversibilità del processo di danno causato dall'amiloide da catene leggere (vedi 2.3).³⁴ Una interessante menzione va fatta alla presenza di fibrillazione atriale, che in questa forma di amiloidosi ha una minore prevalenza con l'aumentare dello stadio di malattia al contrario di ciò che accade nella forma ATTR: è importante, a riguardo di ciò, tenere conto del fatto che la stadiazione della malattia basata sui

valori di NT-proBNP e troponina non riflette alterazioni emodinamiche che sono anche coinvolte nella patogenesi della FA; inoltre, le catene leggere amiloidogeniche modulano la proteina chinasi attivata da mitogeni p38, che può promuovere l'espressione di NT-proBNP, pertanto, nonostante le stesse anomalie emodinamiche, i livelli plasmatici di NT-proBNP sono probabilmente più elevati nell'AL. Un'altra possibile spiegazione potrebbe essere la rapida infiltrazione di amiloide nell'interstizio tipica dell'AL, al contrario del processo di patologico cambiamento strutturale riscontrabile nella ATTR, in cui vi è una dilatazione atriale progressiva cronica e pressioni di riempimento elevate evolute nell'arco di diversi anni.³²

Altre manifestazioni più rare sono a livello: muscolare con debolezza, mialgia, pseudoipertrofia, atrofia, disfagia; polmonare con dispnea, tosse, infiltrati interstiziali diffusi all'imaging; cutaneo con alopecia.¹

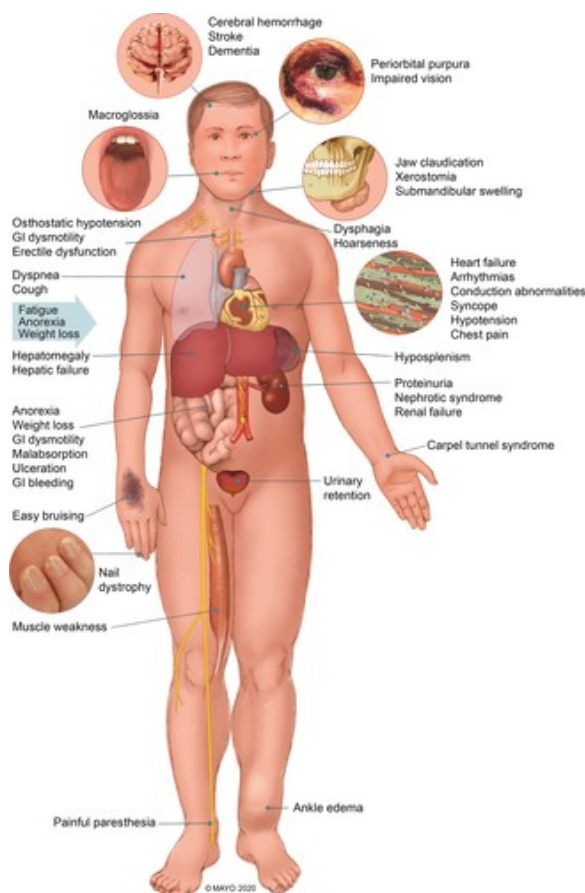


FIGURA 4: nell'immagine sono rappresentati i vari coinvolgimenti in corso di amiloidosi sistemica.

2.7 Test di laboratorio

2.7.1 Dosaggio delle catene leggere libere sieriche

Uno dei test cardine nell'iter diagnostico di amiloidosi cardiaca è il dosaggio delle catene leggere libere sieriche (FLC). Innanzitutto, da un punto di vista fisiologico, queste sono prodotte dalle plasmacellule con un eccesso fisiologico di 500 mg/die. Nell'amiloidosi AL invece, vi è un clone B maligno che ne produce in enorme eccesso: possono far parte di immunoglobuline intatte o possono essere a singolo tipo κ o λ , detta componente monoclonale.³⁵ Inoltre rappresentano, come già visto, sia il marker della patologia sia il principale agente patogeno del danno. Nel flusso sanguigno, possono esistere sia in forma dimerica, prevalente nelle FLC- λ , che monomerica, prevalente nelle FLC- κ .³⁶ Le immunoglobuline sieriche monoclonali possono manifestarsi come un picco aberrante all'elettroforesi delle proteine sieriche, che può essere ulteriormente caratterizzato dall'immunofissazione sierica, anche se il pattern elettroforetico è solitamente invariato quando viene sintetizzata solo una quantità eccessiva di FLC monoclonali. Rispetto ad altre malattie plasmacellulari, nell'amiloidosi AL si riscontra una concentrazione relativamente bassa di proteine monoclonali circolanti e le FLC vengono rilevate solo nella metà dei casi. I saggi FLC sierici automatizzati hanno migliorato la quantificazione della FLC sierica, il rapporto κ/λ e il rapporto tra FLC coinvolte, cioè quelle clonali, e non coinvolte (i/uFLC), quindi in corso di indagine è sempre bene attuare il dosaggio delle FLC sieriche combinato a immunofissazione sierica e urinaria (essenziale quella delle 24h), in modo da poter rilevare la gammopatia monoclonale sottostante con una probabilità del 96-98%: l'assenza di uno di questi potrebbe portare all'incapacità di identificare la discrasia con conseguenze anche severe sulla prognosi del paziente.²⁵ Se l'immunofissazione del siero e delle urine è negativa e il rapporto Ig FLC ($\kappa:\lambda$) è normale (0,26-1,65), si può considerare improbabile la presenza di amiloidosi AL salvo sospetto clinico molto alto (ciò non vale per l'ATTR, nella quale è fondamentale anche il reperto scintigrafico). L'alta frequenza della proteinemia a catena leggera λ è un segno distintivo dell'amiloidosi AL.³⁷

In commercio vi sono diversi tipi di anticorpi utilizzati per riconoscere gli epitopi delle catene leggere, i quali vengono esposti solo se queste sono libere: il test Freelite (The Binding Site Ltd, Birmingham, Regno Unito) utilizza anticorpi policlonali di pecora altamente specifici; il test N-Latex (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germania) si basa su anticorpi monoclonali. Sebbene i saggi N-Latex e Freelite abbiano caratteristiche differenti, possiedono sensibilità diagnostica e prestazioni prognostiche simili. Le differenze tra questi due metodi sono state correlate anche con la forma oligomerica delle FLC: il test Freelite ha dimostrato di riconoscere in modo migliore i dimeri FLC- λ legati da un ponte disolfuro inter-catena, mentre il reagente N-Latex riconosce maggiormente i monomeri FLC- λ .³⁸

Nei soggetti sani, il rene è il sito principale del catabolismo delle FLC con un'emivita sierica dipendente dal loro peso molecolare. Le FLC- κ monomeriche vengono eliminate in 2-4 ore, mentre le FLC- λ dimeriche in 3-6 ore. Il rapporto κ/λ varia tra 0,26 e 1,65 utilizzando il test Freelite. In un paziente, invece, con malattia renale avanzata, il sistema reticoloendoteliale diventa più importante per la rimozione delle catene e il declino della velocità di filtrazione glomerulare si traduce in un aumento delle concentrazioni sieriche di FLC. A causa del diverso catabolismo renale, in pazienti con malattia renale avanzata l'intervallo di riferimento per FLC κ/λ al test Freelite è più ampio (0,37-3,1).^{37,39} Nei pazienti con malattia cardiaca, un rapporto FLC κ/λ normale ha un valore predittivo negativo del 100% per amiloidosi AL.⁴⁰ Va anche posta attenzione al fatto che i pazienti con malattia renale cronica hanno un peggioramento della clearance della catena leggera κ maggiore rispetto alle λ . Poiché, poi, le catene leggere κ sono tipicamente prodotte a un tasso più elevato rispetto alla λ , rapporti tra le due moderatamente elevati nei pazienti con malattia renale cronica possono essere dovute a un equilibrio perturbato di clearance e produzione.⁴¹

Un ulteriore significato assunto dai livelli di FLC è relativo alla prognosi (vedi 2.11).

2.7.2 SPEP e IFE sierica e urinaria

L'immunofissazione, o immunoelettroforesi (IFE), è una indagine di laboratorio che permette di determinare se e quale classe di immunoglobuline (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE) o tipo di catena leggera κ o λ , sia presente in eccesso o difetto nel siero sanguigno, nelle urine o nel liquor del paziente. È un esame costituito da due fasi ed è indicato nei casi di sospetto di patologie monoclonali, discrasie plasmacellulari (mieloma, Waldenstrom) o amiloidosi AL.

Parlando soprattutto di quest'ultima, essa assume un forte significato nell'iter diagnostico. Inizialmente si utilizza l'elettroforesi delle proteine sieriche (SPEP): tra le diverse regioni formatesi (ossia albumina, α_1 , α_2 , β e γ), gli anticorpi migrano nella γ , pertanto le proteine monoclonali saranno ivi identificabili come un "picco M" acuto. In seguito, per confermare la presenza di proteina monoclonale e stabilirne il sottotipo, si attua l'elettroforesi di immunofissazione (IFE), con esposizione del siero ad anticorpi contro vari sottotipi di catene leggere e pesanti. Di solito SPEP/IFE produce un risultato anormale nella maggior parte dei pazienti con proteine monoclonali, tuttavia, poiché il numero di plasmacellule clonali nei pazienti con AL è tipicamente basso, la quantità di proteina monoclonale prodotta può essere difficile da misurare. Inoltre, le plasmacellule clonali nei pazienti con amiloidosi AL spesso producono solo FLC monoclonali e, poiché queste sono più piccole delle immunoglobuline intere, possono migrare verso regioni diverse da quelle γ o possono essere escrete nelle urine. Per questi motivi, il picco M può non essere identificato su SPEP fino al 30% dei pazienti con AL. Si misurerà pertanto la quantità di catena leggera libera sierica (S-FLC). Tutti e tre i test assieme (IFE sierica e urinaria e dosaggio delle FLC) arrivano ad una sensibilità del 99%.

Oltre a SPEP/IFE e SFLC, come detto, è necessario ottenere anche l'elettroforesi delle proteine urinarie (UPEP) e IFE nelle 24 ore: da sola ha una bassa sensibilità, tuttavia è utile per mostrare la presenza di catene leggere clonali specie quando è presente solo una sottile anomalia di FLC sieriche. Infine, come ultimo dato importante, l'UPEP/IFE di 24 ore è utile per determinare l'eziologia del danno renale in pazienti che presentano nuova insufficienza renale associata a gammopatia monoclonale.^{42,43}

2.7.3 Spettrometria di massa, IHC e immunoelettromicroscopia

Dopo essere arrivati alla diagnosi di amiloidosi cardiaca, è fondamentale identificare il tipo di fibrilla amiloide ai fini di una corretta terapia, senza la quale la prognosi del paziente potrebbe peggiorare drasticamente con conseguenze disastrose.

Tradizionalmente, la tipizzazione della fibrilla era basata sull'analisi immunostochimica su biopsie d'organo. Il problema è che questa metodica è stata spesso scartata a causa della bassa sensibilità e della bassa specificità. Più recentemente, sono stati introdotte nuove metodiche come la microdissezione laser (LMD) dei depositi di amiloide visualizzati mediante colorazione Rosso Congo, combinata con spettrometria di massa (MS) o immunoelettromicroscopia (IEM), per la classificazione dell'amiloidosi localizzata, e analisi del proteoma shotgun basate sulla spettrometria di massa delle biopsie del grasso periombelicale per la classificazione dell'amiloidosi sistemica.⁴⁴ Un grande vantaggio della spettrometria di massa per la sottotipizzazione dell'amiloidosi è che non solo misura la proteina amiloidogena, ma misura anche una firma della proteina amiloide condivisa tra tutti i sottotipi di amiloidosi in vari tessuti in modo altamente specifico e quantitativo, comprendendo anche rare varianti ereditarie e iatrogene. Il principale limite di questo esame è che è fortemente operatore-dipendente.⁴⁵

2.7.4 Biomarcatori cardiaci

Ulteriori marcatori indispensabili e con significato a 360° nell'amiloidosi cardiaca sono quelli cardiaci, in particolare troponine e peptidi natriuretici: la loro utilità abbraccia infatti il territorio della diagnosi, dove rappresentano uno dei primi passi nell'iter, della prognosi e del follow-up in corso di terapia.

a) BNP e NT-proBNP

I peptidi natriuretici rientrano tra i principali marker in caso di patologia cardiaca. Essi vengono prodotti dal tessuto miocardico in risposta all'eccessivo allungamento e stiramento delle cellule muscolari cardiache: ciò avviene in caso di mancato svuotamento ventricolare adeguato che causa aumenti pressori nelle camere cardiache.

A sostegno di quanto detto sopra sono stati svolti diversi studi. In uno di questi, attuato su 152 pazienti con amiloidosi AL, l'NT-proBNP plasmatico è stato sempre >97,5° percentile nei pazienti con evidenza clinica ed ecocardiografica di coinvolgimento cardiaco, con una sensibilità del 100% per amiloidosi cardiaca. Inoltre si sottolinea come il marcatore aumenti prima dell'evidenza all'imaging o dello sviluppo dei sintomi, dimostrandosi dunque un potente strumento capace di prevedere la progressione verso l'amiloidosi clinicamente conclamata.^{36,46} Un cut-off del BNP ≥ 412 ng/L, invece, ha identificato pazienti con AL riscontrata istologicamente con sensibilità dell'83% e specificità del 70%.⁴⁷

Va posta attenzione al fatto che i peptidi natriuretici sierici sono influenzati dalla funzionalità renale, in particolare l'NT-proBNP, che viene eliminato interamente dai reni. Tuttavia, uno studio di riferimento di Palladini et al. su 248 pazienti con amiloidosi AL ha dimostrato che questi biomarcatori hanno mantenuto una buona accuratezza diagnostica per amiloidosi cardiaca anche in caso di ridotta velocità di filtrazione glomerulare (GFR), pur con cut-off di NT-proBNP più elevati (332 ng/L, 543 ng/L e 2642 ng/L per i pazienti con GFR ≥ 60 , 60-15 e < 15 ml/min/1,73 m², rispettivamente). Per il BNP, invece, l'influenza della disfunzione renale è minore,

i cut-off diagnostici sono più elevati solo per i pazienti con GFR <15 mL/min/1,73 m² (221 ng/L anziché 73–78 ng/L). I livelli dei peptidi natriuretici vanno comunque interpretati alla luce di diversi fattori, fra i quali età, obesità e aritmie atriali.⁴⁸

L'NT-proBNP in particolare ha assunto grande importanza in quanto è stato incluso nel primo sistema di punteggio di stadiazione Mayo a fini prognostici, dove una soglia di 332 ng/L si è dimostrata il più forte predittore indipendente.⁴⁹ Non a caso, uno spessore del setto interventricolare diastolico terminale >12 mm in assenza di altre cause o un valore di NT-proBNP >332 ng/L in assenza di malattia renale allo stadio terminale o fibrillazione atriale sono stati accettati come criteri diagnostici per amiloidosi cardiaca AL.⁵⁰

Se ci si focalizza invece sull'amiloidosi ATTR, i livelli sierici dei peptidi natriuretici sono significativamente più bassi: ciò è spiegato dalla minore citotossicità dei precursori amiloidi e da effetti emodinamici meno marcati. Nel confronto tra ATTRwt e ATTRv, i peptidi natriuretici sono più elevati nella prima; nella seconda invece sono variamente aumentati in base alla presenza e alla gravità del coinvolgimento cardiaco. I soggetti con mutazioni non-V30M hanno NT-proBNP e BNP più elevati rispetto a quelli con mutazione V30M, nella quale il fenotipo neuropatico è prevalente.³⁶ In uno studio su 36 pazienti con polineuropatia amiloide familiare, asintomatici o con solo sintomi neurologici, NT-proBNP >82 ng/L ha identificato quelli con segni ecocardiografici di coinvolgimento cardiaco con sensibilità del 92% e specificità del 90%.⁵¹

b) TnT e TnI

L'altra grande classe di marcatori cardiaci sono le troponine cardiache I e T (TnI e TnT), ed in particolare le troponine ad alta sensibilità (hs). In generale le troponine sono enzimi appartenenti al tessuto muscolare nella regolazione della contrazione, tuttavia, in caso di danno o stress o morte cellulare, vengono rilasciate in circolo in quantità maggiori. In questo caso, i loro livelli sono leggermente più alti nella forma AL rispetto a quella ATTR, probabilmente a causa della maggiore citotossicità dei precursori AL. Gli studi riguardo le loro prestazioni diagnostiche hanno prodotto

risultati contrastanti³⁶: in uno studio su 63 pazienti con amiloidosi AL, hs-TnT non è stato utile per rilevare pazienti con amiloidosi cardiaca già comprovata da biopsia;⁴⁷ al contrario, in una coorte di 114 pazienti con AL, 82 dei quali con coinvolgimento cardiaco, hs-TnT ha avuto una performance diagnostica ottimale con proposta di un punteggio diagnostico (0-3 punti) costituito da hs-TnT (>35 ng/L), *global longitudinal strain* ($\geq -17\%$) e *apical sparing* ($\geq 0,90$). Questo ha ottenuto risultati migliori rispetto ai criteri di spessore del setto interventricolare >12 mm e NT-proBNP >332 ng/L per l'identificazione del coinvolgimento cardiaco.⁵²

Le hs-troponine cardiache assumono utilità anche nella diagnosi differenziale dell'ipertrofia miocardica. Un valore di cut-off hs-TnT di 31 ng/L ha mostrato una sensibilità del 74% e una specificità del 76% per la diagnosi di amiloidosi cardiaca in 187 pazienti con maggiore spessore della parete.⁵³ Inoltre, sia hs-TnT che NT-proBNP hanno discriminato la forma AL da cardiomiopatie infiltrative come la malattia di Fabry.⁵⁴

In uno studio svolto su pazienti con polineuropatia amiloide familiare, invece, i livelli di TnI o TnT non erano correlati con l'evidenza ecocardiografica di coinvolgimento cardiaco. Al contrario, Damy et al. ha riscontrato che TnT ha un potere discriminante per amiloidosi cardiaca in pazienti con FAP (cut-off 10 ng/mL, sensibilità 54%, specificità 100%).⁵¹

c) Proteine della MEC e HGF

Un'ultima menzione va fatta sulle proteine della matrice extracellulare e sui prodotti di clivaggio: questi possono essere trovati nel flusso sanguigno e i loro livelli riflettono il rimodellamento cardiaco e la fibrosi. Un aumento dei livelli circolanti della metalloproteinasi-9 della MEC e dell'inibitore tissutale della metalloproteinasi-1 sono stati riportati nei pazienti con AL ma non nei pazienti con ATTR, probabilmente sempre a causa della maggiore tossicità miocardica delle catene leggere e del conseguente squilibrio tra deposizione e riassorbimento della matrice.^{36,55}

Il fattore di crescita degli epatociti (HGF) si è visto essere aumentato nei pazienti con mieloma multiplo, specialmente quelli con amiloidosi AL. In uno studio su 145 pazienti con MGUS, si è visto che potrebbe identificare quelli con una diagnosi istologica di amiloidosi AL e a coinvolgimento cardiaco con alta sensibilità e specificità.⁵⁶ Questi risultati sono stati confermati da un altro studio che ha riportato una differenza significativa nei livelli di HGF tra i pazienti con forma AL, rispetto all'ATTR e all'ipertrofia ventricolare sinistra non amiloide.⁵⁷ Allo stesso modo, in un recente rapporto, un valore HGF di 0,205 ng/mL ha identificato con successo pazienti con amiloidosi cardiaca, AL o ATTR, tra 188 individui con sospetto clinico della malattia.⁵⁸

2.7.5 Pre-albumina

Il termine di pre-albumina è una vecchia denominazione che trae origine da un piccolo picco visibile al tracciato elettroforetico in sede antecedente a quello tipico dell'albumina ed indica la transtiretina (TTR). Questa è una proteina tetramerica composta da quattro subunità identiche di 127 aminoacidi e di norma è presente nel plasma e nel liquido cerebrospinale. Possiede due siti di legame per la proteina legante il retinolo 4 (RBP4) e due per la tiroxina (T4). La sua funzione principale è stabilizzare i complessi retinolo-RBP4 circolanti. È per lo più sintetizzata dal fegato ed ha un'emivita di 1,9 giorni. I livelli di TTR plasmatica variano normalmente tra 0,20-0,45 mg/dL, sono più alti nei giovani adulti o nelle persone di mezza età e negli uomini è leggermente superiore rispetto alle donne. Tuttavia i livelli plasmatici possono essere soggetti ad ulteriori variazioni: aumentano se presente malattia renale cronica, terapia con farmaci antinfiammatori e contraccettivi orali; diminuiscono in caso di disturbi infiammatori, malnutrizione, disfunzione epatica, ipertiroidismo, iperglicemia e dialisi. A causa del suo ricco contenuto dell'aminoacido tirosina, un tempo veniva utilizzata come indicatore di carenza proteica e malnutrizione, con test ora non più raccomandati a causa dell'elevato numero di fattori confondenti.³⁶

Nell'ambito dell'amiloidosi cardiaca, soprattutto nella forma ATTR è ancora in fase di valutazione come possibile biomarcatore di malattia. Proprio la dissociazione del tetramero in monomeri insolubili rappresenta la fase cardine della patogenesi dell'amiloidosi. Se presenti mutazioni genetiche, di solito si assiste a livelli circolanti più bassi, probabilmente dovuti alla sua deposizione nei tessuti: ciò si è infatti visto in uno studio di confronto fra portatori di V30M e omozigoti wild-type della stessa area geografica;⁵⁹ inoltre, tra i portatori, i livelli di TTR tendevano ad essere più bassi nei soggetti sintomatici rispetto agli individui asintomatici. Lo stesso vale per le altre varianti, eccetto i portatori della mutazione stabilizzante T119M, i quali hanno livelli di TTR più elevati rispetto ai non portatori.⁶⁰ Al contrario, in uno studio osservazionale sull'amiloidosi ATTRwt, i livelli non differivano tra pazienti con forma ATTRwt e controlli o pazienti con forma AL. I livelli circolanti di TTR potrebbero quindi non essere in grado di discriminare efficacemente l'ATTRwt da soggetti sani, ma vi potrebbe essere un ruolo come biomarcatore di screening per la forma ATTRv.⁶¹

Un altro interessante ambito in cui la transtiretina potrebbe avere utilità è quello della stratificazione del rischio e la valutazione della risposta al trattamento, sia nell'amiloidosi ATTRv che ATTRwt. Nell'ATTRwt livelli inferiori a 18 mg/dL sono stati associati a una sopravvivenza più breve. Nei pazienti con amiloidosi ATTRwt o ATTRv dopo terapia con lo stabilizzatore tafamidis e con AG10 la transtiretina plasmatica aumenta significativamente.^{62,63} Al contrario, le terapie che riducono la sintesi della transtiretina causano una significativa diminuzione dei livelli plasmatici: in questo caso, la diminuzione va valutata positivamente come segno di efficacia terapeutica (es. Patisiran).³⁶

I metodi di quantificazione del TTR plasmatico purtroppo non possono distinguere la transtiretina wild-type da quella mutata, quindi l'analisi genetica rimane il gold standard per l'identificazione delle mutazioni.

Infine un cenno va fatto alla proteina legante il retinolo 4 (RBP4). Essa viene sintetizzata principalmente nel fegato ed eliminata dai reni. Il complesso retinolo-RBP4 ha la funzione di stabilizzare il tetramero della transtiretina, pertanto le mutazioni che causano instabilità a quest'ultima promuovono il distacco di RBP4 e

determinano un aumento dell'escrezione urinaria di RBP4, con conseguente riduzione dei suoi livelli plasmatici, andando a promuovere ulteriormente la destabilizzazione della TTR.³⁶

2.8 ECG

Una delle indagini che spesso e volentieri viene svolta nel momento in cui ci si trova di fronte ad un paziente con sospetta cardiopatia, è l'elettrocardiogramma (ECG) a 12 derivazioni. Nell'ambito dell'amiloidosi cardiaca trova utilità soprattutto in fase di sospetto, in quanto non è sufficientemente sensibile e specifico per poter dare un contributo sufficiente alla diagnosi da solo, e in corso di follow-up. Esiste comunque una indicazione a svolgere l'ECG Holter in pazienti con amiloidosi, ossia quando sono presenti sintomi come vertigini, sincopi, palpitazioni. Le caratteristiche al tracciato elettrocardiografico sono svariate e non sempre ben evidenti.⁶⁴

a) Bassi voltaggi

Una delle alterazioni più tipiche sono i bassi voltaggi, riscontrabili in circa quasi la metà dei pazienti, pur non essendo nelle fasi iniziali particolarmente rilevabili o specifici. Sorge il dubbio su come possano essere presenti in concomitanza all'ispessimento della parete ventricolare sinistra: la risposta sta nel fatto che quest'ultima non è causata da un'ipertrofia dei cardiomiociti, ma dai depositi interstiziali di amiloide. Dagli studi si è notato come un basso voltaggio definito da $QRS < 0,5 \text{ mV}$ negli elettrocateteri degli arti e $< 1 \text{ mV}$ negli elettrocateteri della parete toracica si verifici spesso sia in AL che ATTR, con una netta preferenza per la prima. Tuttavia la prevalenza dei bassi voltaggi è fortemente variabile.⁶⁵ Uno studio ha suggerito come il rapporto tensione-massa, definito come indice di Sokolow-Lyon (S in $V_1 + R$ in $V_5, V_6 > 3,5 \text{ mV}$) diviso per l'area della sezione trasversale della parete ventricolare sinistra, $< 1,5$ possa essere indicativo di

amiloidosi cardiaca. Una possibile ragione della maggior prevalenza di bassi voltaggi in AL è che, nonostante i gradi di infiltrazione siano minori, prevalgono gli effetti tossici delle catene leggere con conseguente sintomatologia più precoce e rapida progressione verso l'insufficienza cardiaca terminale; nella forma ATTR, la quale si comporta più come una cardiomiopatia progressiva, la deposizione di amiloide è più lenta e, non a caso, si è notato che la dimensione del voltaggio è negativamente correlata con la durata dei sintomi: ciò perché essi riflettono un crescente accumulo di proteina amiloide nel tempo.⁶⁶

b) Allungamento del QTc e anomalie della ripolarizzazione

Un altro reperto elettrocardiografico spesso presente è il prolungamento dell'intervallo QTc. In particolare, secondo un piccolo studio nei pazienti con ispessimento della parete ventricolare sinistra, un'estensione del QTc > 440 ms associato a indice Sokolow-Lyon < 1,5 mV ha alta sensibilità e specificità per rilevare l'amiloidosi cardiaca.⁶⁴ Le anomalie del tratto ST-T sono ugualmente comuni. L'inversione dell'onda T è una caratteristica tipica di cardiomiopatia a fenotipo ipertrofico: in questi pazienti di solito coinvolge le derivazioni inferiori e laterali e può essere associata a sottoslivellamento del tratto ST, rappresentando un segno o di ischemia subendocardica da coronaropatia o di anomalia del tessuto miocardico da espansione interstiziale. L'inversione dell'onda T si osserva maggiormente nella forma AL, probabilmente a causa dei differenti pattern di infiltrazione e degli effetti tossici.⁶⁷

c) Pattern pseudoinfartuale e aumento del QRS

Con pattern pseudoinfartuale si intende la presenza di onde Q patologiche (1/4 dell'ampiezza R) o onde QS su 2 derivazioni contigue in assenza di precedente cardiopatia ischemica, blocco di branca sinistra o anomalie del movimento della parete ventricolare sinistra. Anche questo è un reperto elettrocardiografico comune osservato in entrambe le forme AL e ATTR. Nei pazienti con AL, in particolare, la

presenza di tale pattern è stata associata a una pressione arteriosa sistolica più bassa, a livelli più elevati di NT-proBNP e a classi NYHA più avanzate con sopravvivenza significativamente più breve. Come nel caso dei bassi voltaggi concomitanti a ispessimento ventricolare, anche qui è presente una situazione paradossale: onde Q patologiche in cuori privi di ostruzione coronarica evidente. La spiegazione sta nel fatto che l'amiloide andrebbe a depositarsi nel microcircolo e nelle arterie intramiocardiche più piccole. Per quanto riguarda i pazienti con ATTR, il pattern, se presente, coinvolge principalmente le derivazioni anteriori e la sua presenza aumenta progressivamente con l'aumentare dello spessore del setto interventricolare, risultando essere più comune nei pazienti con cuori più ipertrofici.⁶⁶

d) Blocchi AV, bradicardie, blocchi di branca

Alle caratteristiche appena viste si aggiungono anche i blocchi AV e le bradicardie da disfunzione del nodo del seno. In corso di amiloidosi cardiaca sono complicanze comuni e che possono esitare nell'impianto di pacemaker o ICD, a seconda dell'entità del coinvolgimento cardiaco. In questo caso, i pazienti con ATTR presentano una maggiore prevalenza di difetti di conduzione tra cui blocco AV di grado 1 o superiore e ritardo intraventricolare.⁶⁶ Altre manifestazioni del danno al sistema di conduzione sono il coinvolgimento del tratto di His-Purkinje, con ritardi aspecifici intraventricolari, blocchi fascicolari o blocchi di branca completi. La causa di ciò è la deposizione delle fibrille a livello dei sistemi di conduzione e dei gangli cardiaci assieme alla concomitante degenerazione senile delle vie di conduzione, specialmente nella ATTRwt, oppure l'ischemia miocardica da deposizione di amiloide perivascolare e squilibrio nella dilatazione dei vasi. Va posta poi attenzione al fatto che ci si può trovare di fronte a complessi QRS stretti nonostante un dimostrato ritardo nell'intervallo H-V: ciò è spiegato dal fatto che sono coinvolte in ugual misura entrambe le branche e i sistemi di conduzione distali. Il prolungamento dell'intervallo H-V è più frequente nell'ATTR e si associa ad un rischio maggiore di blocchi AV completi e morte cardiaca improvvisa da dissociazione elettromeccanica. Infine anche il blocco di branca sinistro è più

frequente nell'ATTR rispetto all'AL, mentre il blocco di branca destro e l'emiblocco anteriore sinistro hanno simile prevalenza nei due gruppi.⁶⁷

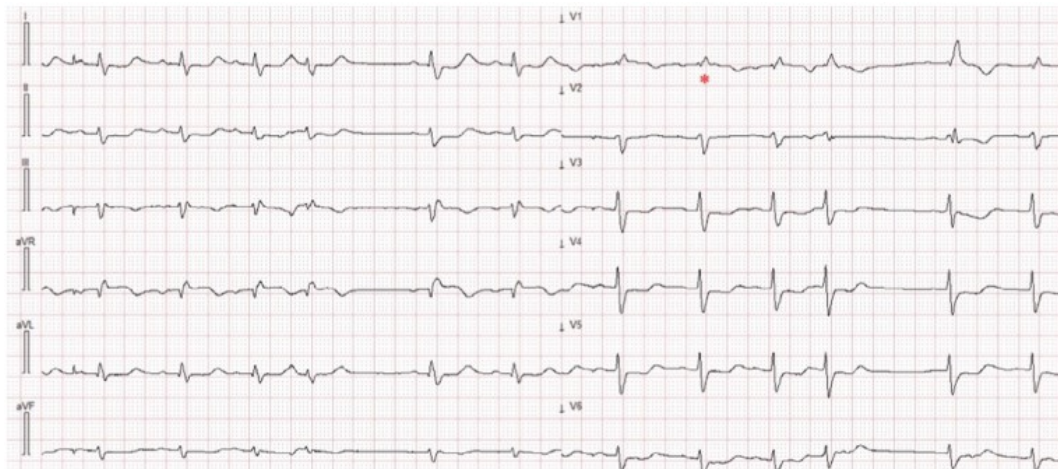


FIGURA 5: nell'immagine è raffigurato un ECG a 12 derivazioni di un uomo con ATTRwt associata a FA, RBB (asterisco rosso), emiblocco anteriore sinistro e anomalie del tratto ST-T in sede infero-laterale.

e) Fibrillazione atriale ed emiblocco atriale sinistro

Altro grande reperto elettrocardiografico riscontrabile nell'amiloidosi cardiaca è la fibrillazione atriale. Molteplici sono i meccanismi coinvolti nella patogenesi della fibrillazione atriale nell'amiloidosi: in primo luogo l'infiltrazione da parte dell'amiloide delle pareti atriali, che porta a un danno strutturale, elettrico e contrattile degli atri; un secondo meccanismo è rappresentato dall'emodinamica di tipo restrittivo, caratterizzata da severa disfunzione diastolica e aumento delle pressioni di riempimento ventricolare, le quali portano a dilatazione atriale e insufficienza della valvola atrioventricolare. La prevalenza è maggiore nell'ATTR rispetto ad AL e ATTRv. Tuttavia esiste anche una forma isolata detta "amiloidosi atriale isolata": questa è caratterizzata da depositi nelle appendici atriali di destra e sinistra in un pattern interstiziale irregolare o diffuso e con immunoreazione positiva per peptide natriuretico atriale; a tal riguardo, ogni stimolo cardiaco e non che aumenta la sintesi e secrezione di ANP, come esercizio fisico, ipossia, ischemia, scompenso o valvulopatia mitralica, può incentivare l'amiloidogenesi e la deposizione di fibrille.⁶⁷ Quanto a frequenza, in uno studio è stato il ritmo cardiaco anormale più comune nel gruppo ATTR.⁶⁵

f) Aritmie ventricolari

Sono meno frequenti rispetto a quelle sopraventricolari. Fino al 74% dei pazienti può incorrere in una tachicardia ventricolare non sostenuta, senza differenze fra le varie forme di amiloidosi cardiaca. I meccanismi alla base della loro insorgenza sono lo squilibrio nel sistema autonomico, l'ischemia miocardica da infiltrazione capillare con disfunzione microvascolare e la distribuzione disomogenea dell'amiloide negli strati miocardici. Va notato inoltre come le tachicardie ventricolari non sostenute siano più frequenti in stadi più avanzati di scompenso, caratterizzati da alte classi NYHA, elevati livelli dei peptidi natriuretici e basse frazioni di eiezione. Alternativamente sono stati riscontrati anche casi di tachicardie ventricolari sostenute e fibrillazioni ventricolari defibrillate, associate anch'esse a morte cardiaca improvvisa.

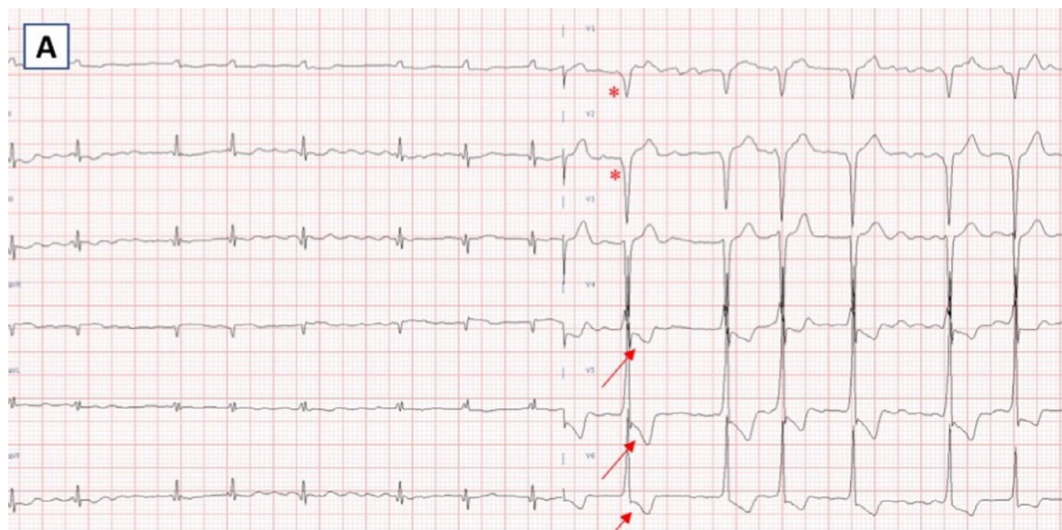


FIGURA 6: nell'immagine è raffigurato un ECG a 12 derivazioni di un uomo con amiloidosi cardiaca associata a FA, pattern pseudo-infartuale in V1-V2 (asterischi rossi), LQRSV and anomalie di ST-T nelle derivazioni laterali (frecce rosse).

2.9 Imaging

Una componente fondamentale nel sospetto diagnostico ma anche nel follow-up dell'amiloidosi cardiaca è rivestita dall'imaging, il quale si avvale sostanzialmente di ecocardiogramma, risonanza magnetica e scintigrafia. Come vedremo a breve, ognuno ha delle indicazioni specifiche date da sensibilità, specificità, invasività e costi.

2.9.1 Ecocardiogramma

All'ecocardiogramma sono molteplici le caratteristiche da prendere in considerazione che potrebbero far sospettare la presenza di amiloidosi cardiaca, anche se non sufficientemente sensibili e specifiche per fare diagnosi, ma estremamente utili anche nella fase di follow-up.

a) Ipertrofia della parete ventricolare

Tenendo a mente che l'amiloide può infiltrarsi in tutte le camere cardiache, il processo può provocare un ispessimento della parete biventricolare, più comunemente simmetrico in AL e asimmetrico in ATTR con ventricoli non dilatati o addirittura piccoli. Nei pattern asimmetrici della forma ATTR, la parete con l'ipertrofia di grado maggiore è il setto, il quale può presentare una forma sigmoidea o una curvatura inversa.⁶⁸ Di solito l'ispessimento è sinistro e concentrico, ma associabile anche a ispessimento destro. Inoltre, la parete ventricolare sinistra può essere iperecogena al contrario della vera ipertrofia e lo spessore è frequentemente ≥ 15 mm. Spessori >18 mm sono più comuni nell'ATTR, tuttavia sono riscontrabili anche nella forma AL. In diagnosi differenziale rientra la cardiopatia ipertensiva, patologia tipica dei soggetti anziani, ma difficilmente si evidenziano pareti del ventricolo sinistro così spesse, a meno che l'ipertensione alla base non sia grave, di lunga data e persistente; un segno importante e fortemente indicativo di amiloidosi cardiaca è la discrepanza paradossa tra l'aumento della massa LV sull'ecocardiogramma e i bassi voltaggi periferici sull'ECG.⁶⁹

b) Ispessimento delle valvole AV

La deposizione delle fibrille può coinvolgere anche le valvole, che risultano quindi leggermente ispessite, ma raramente si arriva ad un significativo rigurgito o alla stenosi. Un'eccezione è la contemporanea presenza del pacemaker, in cui il rigurgito tricuspidalico può essere più grave di quanto di solito si osserva con il solo elettrocatteter. ¹⁵

c) Dilatazione e disfunzione atriale

La disfunzione contrattile atriale sinistra può essere sospettata dall'assenza di un'onda A transmitrale e di un a' al Doppler tissutale in un paziente con ritmo sinusale (segni comunque anche della fisiopatologia restrittiva). L'imaging della contrazione atriale spesso rivela non solo un alterato accorciamento durante il periodo della sistole atriale, ma anche un fallimento nell'espansione durante il riempimento. Inoltre, se risulta poi accoppiato con un basso volume di eiezione e una superficie endocardica atriale irregolare a causa dei depositi di amiloide, l'atrio diventa una sede prona alla formazione di trombi non solo in caso di fibrillazione atriale, ma anche quando è in ritmo sinusale, in particolare nell'AL.⁷⁰ C'è anche un'alta prevalenza di trombi intracardiaci nella fibrillazione atriale nonostante l'anticoagulazione a lungo termine: in questi casi è necessario l'utilizzo di imaging specifico per escludere i trombi intracardiaci prima di attuare la cardioversione.⁶⁸

d) Disfunzione diastolica e versamento pericardico

La disfunzione diastolica è spesso grave, con pattern restrittivo caratterizzato da un breve tempo di decelerazione sul Doppler pulsato transmitrale e basse velocità Doppler tissutali nella parete del ventricolo sinistro. E/e' frequentemente è > 15, il che indica un'elevata pressione di riempimento del ventricolo sinistro.¹⁵ Quest'ultimo infatti, a causa dell'infiltrazione interstiziale delle fibrille, diventa ispessito e fortemente rigido e incapace di rilasciarsi nella fase di riempimento.

Cambiamenti simili avvengono anche nel ventricolo destro.⁶⁸ Una possibile complicanza della cardiomiopatia amiloidotica, a sua volta un'ulteriore causa di disfunzione diastolica, è il versamento pericardico. L'evoluzione a tamponamento cardiaco vero e proprio è però rara e a causa delle elevate pressioni diastoliche e dell'aumento della rigidità delle pareti può non essere visibile il tipico collasso diastolico nelle sezioni destre.¹⁵ I versamenti pericardici e pleurici sono relativamente comuni, specialmente nella AL. L'amiloidosi cardiaca può presentare comunque sia compromissione sistolica che diastolica.⁶⁸

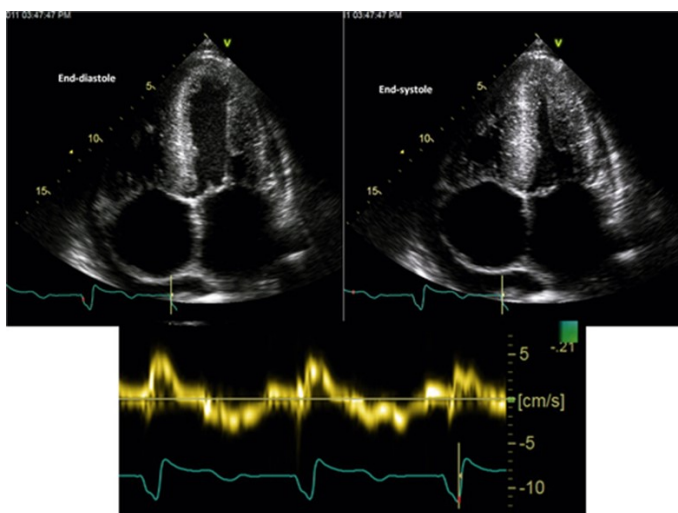


FIGURA 7: le immagini in alto a sinistra e a destra rappresentano dei frame a fine diastole e fine sistole, rispettivamente, che dimostrano una normale frazione di eiezione; le pareti ventricolari sinistre sono moderatamente spesse con dilatazione biatriale; la dimensione dell'atrio cambia minimamente durante il ciclo cardiaco, conseguenza del fallimento della funzione atriale, nonostante il ritmo sinusale. Nell'immagine in basso, invece, è presente una registrazione al Doppler tissutale settale nello stesso paziente, che mostra riduzione sia della velocità longitudinale sistolica che diastolica, nonostante la normale frazione di eiezione, reperto tipico della cardiomiopatia amiloide.

e) “Myocardial granular sparkling” (nell'imaging non armonico)

La presenza di questo reperto ecocardiografico è fortemente suggestiva di amiloidosi cardiaca ed è causata dalla deposizione delle fibrille insolubili di amiloide a livello delle pareti ventricolari, in particolare del setto. Spesso è accompagnata dall'ispessimento di queste in assenza, tuttavia, di dilatazione ventricolare sinistra.⁷¹

- f) Pattern di deformazione longitudinale regionale con risparmio apicale (rapporto $>2:1$) o aumento del rapporto LVEF/deformazione longitudinale globale (>4) (pattern a "ciliegina sulla torta")

La riduzione delle velocità di movimento della parete sistolica di picco, che colpisce in modo sproporzionato gli assi longitudinali piuttosto che quelli radiali, è presente precocemente e la disfunzione contrattile longitudinale può essere grave. Questo è molto più marcato di altre cause di aumento della massa ventricolare sinistra, e la riduzione della deformazione longitudinale risparmia tipicamente l'apice, dando il caratteristico quadro di "risparmio apicale relativo" e marcata compromissione alla base.⁷² Il ventricolo rigido causa anche un periodo prolungato di diastasi, a partire dalla sistole medio-tardiva e persistendo nella diastole centrale. Questa caratteristica è utile per aiutare a differenziare l'amiloidosi cardiaca dalle fenocopie ipertrofiche ed è un forte marker prognostico.^{68,15}

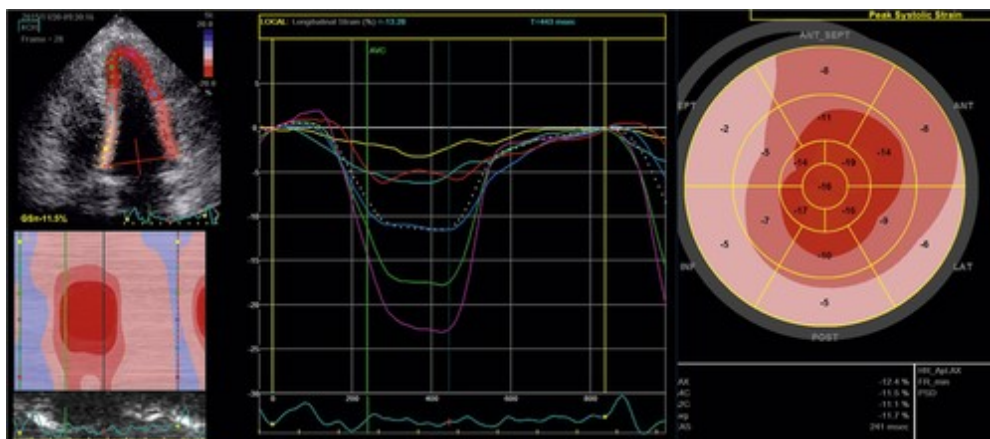


FIGURA 8: nell'immagine di sinistra c'è una codifica cromatica segmentale nella vista apicale a 4 camere, con l'apice rosso scuro, indice di una deformazione più negativa rispetto al rosa, indice di una minore deformazione alla base. Nell'immagine centrale si vede la corrispondente deformazione segmentale individuale. Nell'immagine a destra è raffigurato un grafico a occhio di buie derivato dalle 3 viste apicali, che mostra il risparmio dell'apice cardiaco (centro della trama) con ridotta tensione media e basale.

- g) Stenosi aortica a basso flusso e basso gradiente

Un'ultima caratteristica spesso riscontrabile in pazienti affetti da amiloidosi e che rientra nei criteri di sospetto clinico è la presenza di stenosi valvolare: di solito coinvolge la valvola aortica ed è a basso flusso e basso gradiente. Nell'ATTR

l'amiloide può infiltrarsi anche a questo livello e nell'evoluzione, dopo la calcificazione, si presenta con stenosi da moderata a grave. I fattori di rischio si presume siano l'aumento del post-carico cardiaco del ventricolo sinistro nella stenosi aortica o l'aumento dello stress di parete, che potrebbe determinare il deposito di amiloide.⁷³

Una interessante menzione va inoltre fatta ad un recente studio multicentrico,⁷⁴ il quale ha proposto un punteggio per facilitare la diagnosi ecocardiografica dell'amiloidosi AL o ATTR in presenza di un aumento dello spessore della parete ventricolare sinistra. Non è stato ancora validato, tuttavia un punteggio ≥ 8 potrebbe essere considerato diagnostico della malattia (figura 9).

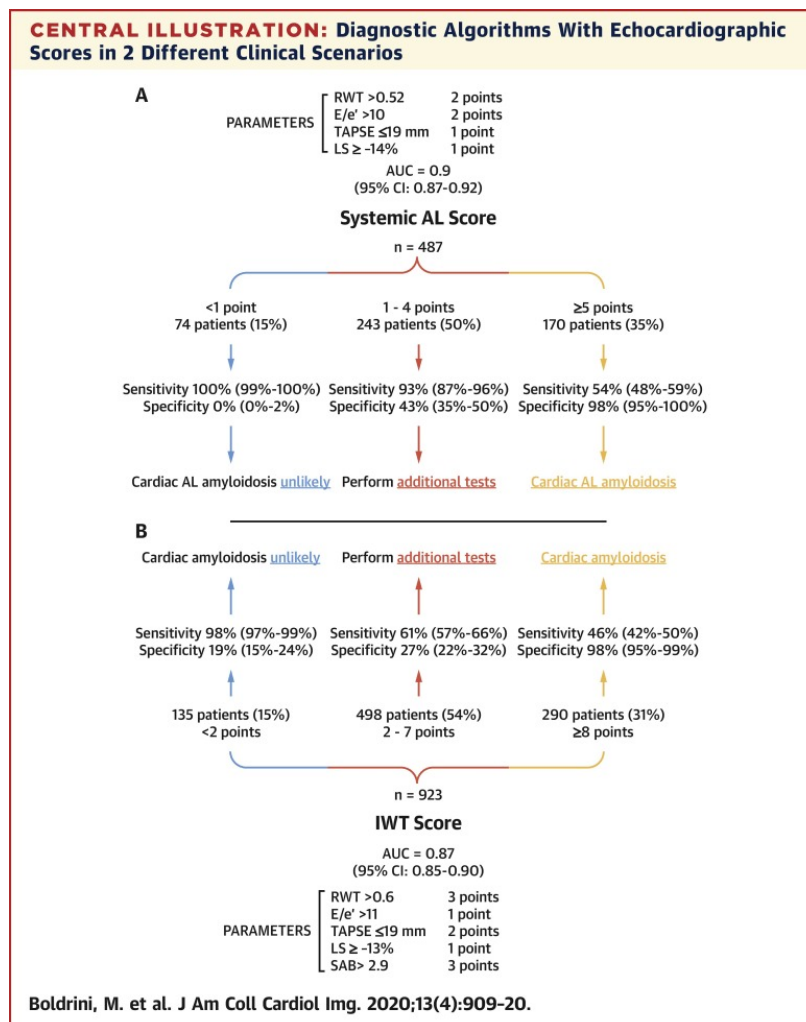


FIGURA 9: l'immagine raffigura nei dettagli lo score multiparametrico utile ad una possibile diagnosi ecografica dell'amiloidosi cardiaca.

2.9.2 Risonanza magnetica cardiaca

Enorme importanza viene rivestita anche da un'altra metodica di imaging, specialmente in fase di sospetto ma anche nella definizione della diagnosi se ancora dubbia: stiamo parlando della risonanza magnetica cardiaca. A causa dei costi e di alcuni limiti, non può essere adottata in modo così frequente come nel caso dell'ecocardiogramma, ma ha la capacità di risultare decisiva in particolari frangenti. Le caratteristiche alla CMR che alimentano il sospetto e supportano la diagnosi sono le seguenti.

a) LGE (late gadoline enhancement) diffuso endocardico o transmurale

Nell'amiloidosi cardiaca, una delle caratteristiche principali è l'espansione dello spazio extracellulare dovuta all'aumento della deposizione di amiloide, che, nella CMR porta a concentrazioni elevate di gadolinio nel miocardio e a una prolungata impermeabilità, con conseguente LGE. La distribuzione del LGE può essere subendocardica o transmurale, associata, inoltre, ad un pool di sangue ipointenso a causa della cinetica anomala assunta dal gadolinio e, a differenza dell'infarto del miocardio, il LGE nell'amiloidosi non è limitato a territori vascolari caratteristici né è ben definito (*figura 10*). Sono possibili tre pattern, i quali sono in continuo fra di loro e sono correlati all'estensione dell'infiltrazione miocardica: nullo, subendocardico e transmurale. Il pattern transmurale è associato ad una prognosi più sfavorevole, in quanto coincide con una maggior infiltrazione di amiloide. Il LGE, oltre ad essere frequentemente presente anche nel ventricolo destro, sembra sia più comune nella forma ATTR, anche se va ricordato che non è in grado di distinguere i vari sottotipi di amiloidosi.⁷⁵ A riguardo è stato fatto un tentativo per determinare se la CMR potesse o meno differenziare l'amiloidosi AL e ATTR: in un gruppo di 97 pazienti, che consisteva di 46 pazienti con amiloidosi AL e 51 pazienti con ATTR, la massa ventricolare sinistra era molto più alta nel gruppo ATTR (228 g) rispetto al gruppo AL (167 g) e LGE era più esteso nel gruppo ATTR (90% transmurale), rispetto ad AL (37%); nonostante questi risultati, la sopravvivenza è stata significativamente migliore nei pazienti con ATTR, ma con

una sovrapposizione considerevole.⁷⁶ Sebbene LGE non abbia specificità del 100%, possiede un significato prognostico: in uno studio tra 241 pazienti con amiloidosi e 9 portatori asintomatici, in cui il volume extracellulare (che rappresenta il carico di amiloide) è stato misurato mediante mappatura T1, è stato determinato LGE transmurale per rappresentare l'amiloidosi cardiaca avanzata, risultando fortemente associato ad un alto rischio di mortalità in un follow-up medio di 2 anni.⁷⁷

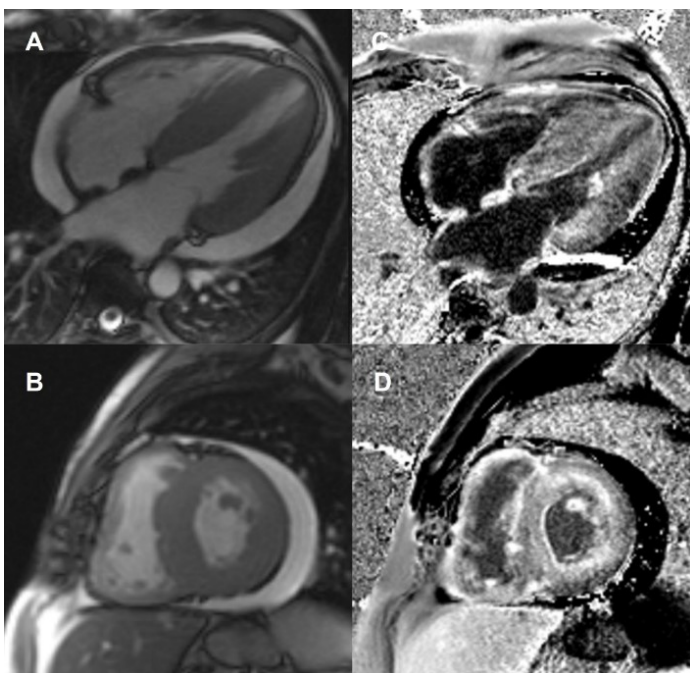


FIGURA 10: immagini di risonanza magnetica (A) ad asse lungo orizzontale diastolico e (B) Asse corto medioventricolare che mostrano ispessimento concentrico delle pareti ventricolari sinistre (la parete settale misura 26 mm), ispessimento ventricolare destro, dilatazione biatriale, ispessimento del setto interatriale (9 mm) e versamento pericardico. Le corrispondenti immagini LGE (C e D) mostrano un'ampia infiltrazione di amiloide con captazione generalizzata di gadolinio.

b) Aumento del T1 nativo miocardico

La mappatura T1 senza contrasto (= T1 nativo) è una tecnica in cui il segnale quantitativo diretto dal miocardio viene misurato prima della somministrazione del contrasto. Tale metodica misura il segnale intrinseco miocardico. Diversi studi hanno mostrato cambiamenti nel T1 miocardico affetto da patologia: il T1 nativo è ridotto ad esempio nel sovraccarico di ferro e nell'infiltrazione di grasso come la malattia di Fabry, mentre un leggero aumento del T1 nativo si verifica nella fibrosi

focale e diffusa, nell'edema e nell'infiammazione. Il T1 nativo è sostanzialmente elevato in presenza di amiloidosi cardiaca, sia AL che ATTR. La mappatura nativa del miocardio T1 è stata associata con un'elevata accuratezza diagnostica ed è in grado di rilevare sia ATTR che AL con un'accuratezza simile a quella effettuata con mdc, anche se nell'ATTR l'elevazione massima di T1 è inferiore. Tuttavia l'aspetto negativo è che può essere un confondente, poiché misura il segnale miocardico sia dall'interstizio che dai cardiomiociti, senza distinguere tra i processi sottostanti come fibrosi, edema, amiloide, volume dei miociti. Inoltre, vengono misurati anche la densità capillare, la vasodilatazione capillare e il "volume parziale" tra il pool sanguigno e il miocardio.^{75,78} In uno studio su 868 pazienti con sospetta amiloidosi, la mappatura T1 ha diagnosticato la patologia con una sensibilità dell'85% e una specificità dell'87%, e può essere considerato un marcatore precoce di malattia, poiché aumenta con l'infiltrazione di amiloide cardiaca e si correla con marcatori di disfunzione sistolica e diastolica. La mappatura T1 può anche misurare il continuum dell'infiltrazione amiloide cardiaca dalle prime fasi al coinvolgimento transmurale diffuso e valori > 1136 ms sono un forte indice di amiloide cardiaca in pazienti con sospetto clinico. Il gadolinio e l'ECV, però, consentendo l'isolamento del segnale dallo spazio extracellulare, restano marker più affidabili per valutare l'infiltrazione di amiloide (*figura 11*).⁷⁵

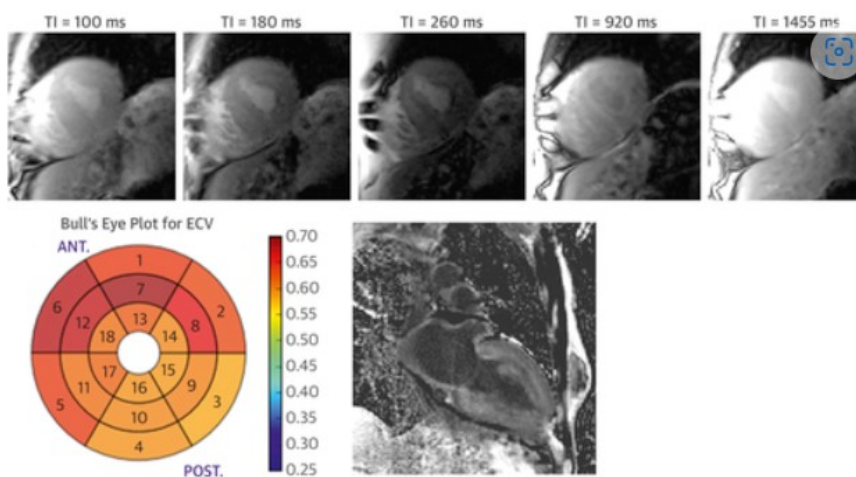


FIGURA 11: in alto immagini da un'acquisizione Look-Locker modificata in un paziente con amiloidosi cardiaca TTR, mostrate nell'ordine crescente di tempo dopo l'inversione di magnetizzazione (TI). Il segnale miocardico si annulla caratteristicamente precocemente rispetto al segnale del pool sanguigno. In basso a sinistra un grafico della frazione di volume extracellulare (ECV), calcolato dalle misurazioni del tasso di rilassamento pre e post-contrasto nei segmenti basali, medi e apicali. In basso a destra immagini del LGE.

c) Aumento della frazione di volume extracellulare (ECV rate > 0.4)

L'ECV miocardico rappresenta la proporzione di acqua extracellulare, un indicatore del processo di ritenzione idrica, a prescindere che si tratti di fibrosi, amiloide o edema. Nell'amiloidosi, i valori dell'ECV sono marcatamente elevati e tendono ad essere più alti rispetto a qualsiasi altra cardiomiopatia. Consente inoltre una quantificazione non invasiva del carico di amiloide cardiaco e il suo aumento durante l'infiltrazione cardiaca può essere rilevato precocemente prima dello sviluppo di ipertrofia ventricolare sinistra, LGE o aumento dei biomarcatori sierici.⁷⁵ Si è visto inoltre che può essere un predittore di mortalità nella forma ATTR e, assieme al T1 nativo, anche un predittore di sopravvivenza: in uno studio il volume extracellulare medio > 45% nei pazienti con amiloidosi portava un hazard ratio per la morte di 3,84 e un T1 pre-contrasto > 1.044 ms aveva un hazard ratio di 5,39 per la mortalità. Tuttavia, fra i due l'ECV è il predittore più affidabile.⁷⁹ Lo svantaggio è che non permette la differenziazione fra i sottotipi.

Per quanto riguarda altre modalità, la CMR pesata in T2 può rilevare l'edema miocardico, presente nell'amiloidosi. Tuttavia non c'è stata una valutazione così ampia rispetto ai valori T1 nativo o ECV. In uno studio, il T2 è risultato essere più alto nell'AL non trattata rispetto all'AL e ATTR trattate, comportandosi anche come un predittore prognostico nell'AL.⁸⁰ Nel complesso, però, la mappatura quantitativa del tempo di rilassamento miocardico T2 non ha dimostrato una differenza significativa tra amiloide infiltrata e miocardio normale. Infine, sempre utilizzando la CMR, Fontana et al., in un confronto fra forme AL/ATTRwt/ATTRv, hanno notato che la massa ventricolare sinistra era molto più alta nel gruppo ATTR, nel quale vi era anche un aumento del 18% dello spazio intracellulare rispetto sia ai pazienti con amiloidosi AL che ai soggetti di controllo normali. Questi dati suggeriscono che esiste una risposta ipertrofica del miocardio all'infiltrazione con fibrille di transtiretina. Nell'amiloidosi AL invece il volume intracellulare non differiva dai soggetti di controllo, il che implicava che i bassi voltaggi non rappresentavano la perdita di cardiomiociti, ma andavano attribuiti piuttosto ad una loro disfunzione.⁸¹

2.9.3 Scintigrafia con radiotracciante osteotropico

La scintigrafia con radiotracciante risulta un esame fondamentale, in quanto assieme al dosaggio delle catene leggere sieriche può portare alla diagnosi. Se un tempo era necessaria la biopsia endomiocardica per la diagnosi di ATTR, ora ci si può avvalere di questa metodica non invasiva, che va comunque abbinata ai reperti riscontrati all'ecocardiografia e alla risonanza magnetica cardiaca, poiché difetta di informazioni strutturali ed emodinamiche e, in tal modo, permette di distinguere l'amiloidosi cardiaca da altre cardiomiopatie a fenotipo ipertrofico.⁸²

Le immagini alla scintigrafia sono tipicamente valutate utilizzando una classificazione visiva oppure metriche semi-quantitative. La prima si basa sul punteggio Perugini (*figura 12*), il quale classifica l'assorbimento miocardico all'imaging a 3h come segue:

- Grado 0 = nessun assorbimento miocardico;
- Grado 1 = assorbimento miocardico inferiore all'assorbimento osseo;
- Grado 2 = assorbimento miocardico paragonabile all'assorbimento osseo
- Grado 3 = assorbimento miocardico superiore all'assorbimento osseo in cui l'assorbimento osseo è definito dall'assorbimento del tracciante da parte delle costole adiacenti al cuore.

Il metodo semiquantitativo, invece, si basa sul rapporto cuore-polmone controlaterale (rapporto H/CL) con utilizzo di scintigrafia ^{99m}Tc-PYP a un'ora dopo l'iniezione: viene definito come il rapporto tra la conta media ottenuta nella regione di interesse disegnata sull'intero miocardio e la conta all'interno di una regione di interesse di dimensioni simili sul polmone controlaterale sull'imaging planare a 1h; ha il vantaggio di un tempo di imaging più breve e un rapporto H/CL $\geq 1,5$ si è visto avere una sensibilità del 97% e una specificità del 100% per identificare l'amiloidosi

cardiaca ATTR, mentre un cut-off del rapporto H/CL $\geq 1,3$ è stato convalidato per avere un'accuratezza diagnostica simile per le immagini a 3h.^{82,83}

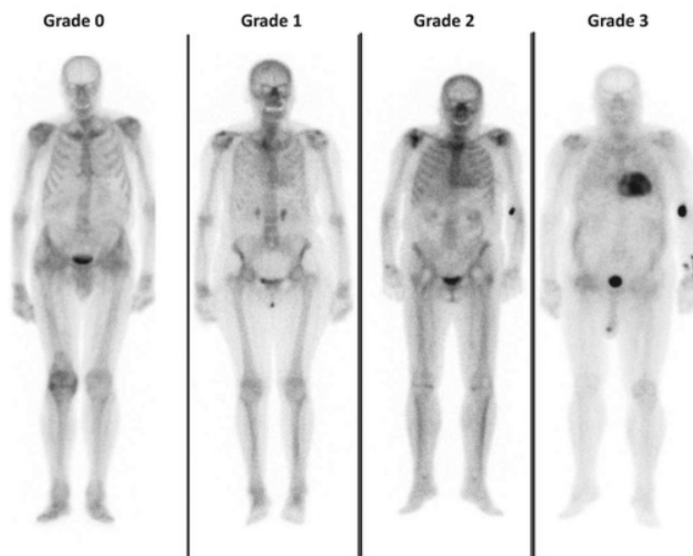


FIGURA 12: nell'immagine sono raffigurati i vari gradi di captazione cardiaca secondo Perugini.

Sebbene gli studi iniziali abbiano dimostrato un'elevata sensibilità e specificità per ^{99m}Tc -DPD per diagnosticare ATTR, studi successivi hanno rilevato che $>1/5$ dei pazienti con AL può dimostrare un assorbimento miocardico di grado 2 o 3 con ^{99m}Tc -PYP/DPD/HMDP. La valutazione semi-quantitativa utilizzando l'imaging planare con ^{99m}Tc -PYP, un rapporto cuore-uptake polmonare controlaterale (H/CL) di $>1,5$ a 1h ha accuratamente distinto ATTR da AL con sensibilità del 97% e specificità del 100%.⁸⁴ In ogni caso in pazienti con sospetta amiloidosi cardiaca, anche in presenza di un grado 2 o 3, le discrasie plasmacellulari devono sempre essere escluse per evitare diagnosi mancate di amiloidosi AL con le temibili conseguenze ad essa associate.⁸⁵ Tra i limiti, l'imaging a 1h può avere una specificità relativamente bassa, un problema che è risolvibile con una tomografia computerizzata a emissione di fotone singolo (SPECT) o l'imaging SPECT/tomografia computerizzata (TC), in modo da differenziare il vero assorbimento miocardico dall'attività radiotracciante associata ad esempio a infarti del miocardio, fratture costali o pool sanguigni.⁸⁶ Al contrario, l'imaging 3-h arriva a una specificità del 100%. Per di più le metriche semi-quantitative di H/CL e gli alti rapporti di tutto il corpo sono predittori indipendenti della sopravvivenza.

Grazie ad un ampio studio multicentrico che ha valutato l'accuratezza diagnostica di tutti e 3 i traccianti, ^{99m}Tc -DPD, ^{99m}Tc -PYP o ^{99m}Tc -HMDP, in 1217 pazienti con sospetto di malattia, nel quale si è visto che qualsiasi assorbimento di radiotraccianti (gradi 1, 2 e 3) è stato sensibile al >99% e specifico all'86% per rilevare ATTR e che, associato all'assenza di una proteina monoclonale nel siero o nelle urine, specificità e valore predittivo positivo per ATTR raggiungevano il 100%, si è arrivati all'attuale ruolo non invasivo della scintigrafia nell'iter diagnostico (vedi 2.5.2).²⁴ È interessante notare che un altro tracciante comunemente usato per la scintigrafia ossea, ^{99m}Tc -MDP, non è utile per l'imaging dell'amiloidosi cardiaca in quanto non ha mostrato un aumento dell'assorbimento miocardico nei pazienti affetti (*figura 13*). Il meccanismo più probabile di elevata captazione miocardica di ^{99m}Tc -PYP/DPD/HMDP è il legame di questi traccianti al contenuto di calcio all'interno delle fibrille amiloidi, simile alla loro affinità con il calcio nelle ossa. Alcuni studi hanno ipotizzato che le maggiori densità di microcalcificazione nell'ATTR siano il motivo del legame preferenziale con questa piuttosto che con l'AL.⁸³

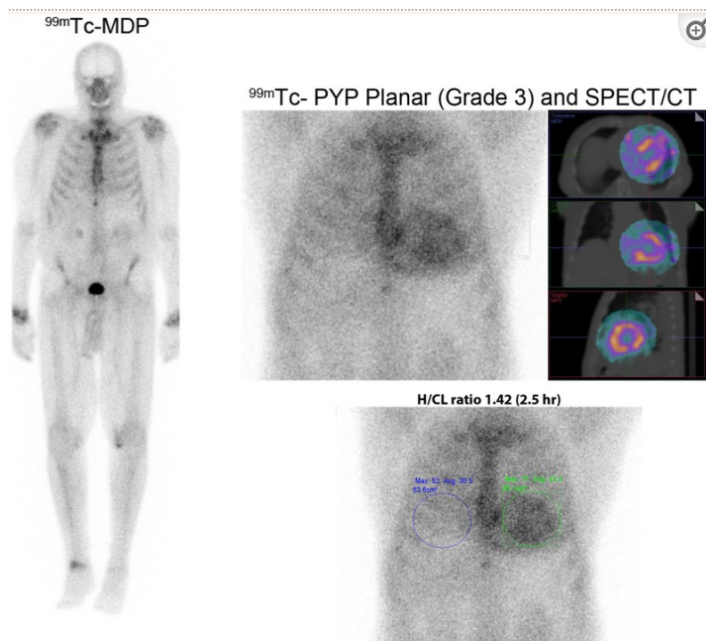


FIGURA 13: nell'immagine si vede una scansione con Tc- 99m -MDP che non mostra alcun assorbimento miocardico. È stata eseguita successivamente una scansione con Tc- 99m -PYP utilizzando l'imaging planare del torace e SPECT 2,5 ore dopo l'iniezione di radiotracciante con riscontro di assorbimento miocardico di grado 3 e un rapporto cuore-polmone controlaterale di 1,42 su immagini planari ($\geq 1,3$ anormali per immagini tardive).

2.9.4 Tomografia a emissione di positroni (PET)

Le fibrille amiloidi possono essere riscontrate anche tramite PET, effettuata con tracciante leganti amiloide. Fra questi si annoverano il C-11-Pittsburgh compound B, F-18-florbetapir e F-18-florbetaben: la loro utilità sta nel fatto di essere in grado di visualizzare e quantificare in modo specifico il carico di amiloide globale e regionale nel cuore e rilevare i cambiamenti molecolari nella composizione della fibrilla come segno precoce di risposta alla terapia. La valutazione è visiva e si basa su: target-to-background ratio; indice di ritenzione miocardica; valore di assorbimento standardizzato miocardico.⁸²

A livello di studi, il C-11-Pittsburgh compound B si è visto essere più alto nei soggetti con amiloidosi cardiaca AL e ATTR, senza tuttavia produrre rilevanti differenze tra le due forme.⁸⁷

F-18-florbetapir è un derivato dello stilbene con elevata affinità e specificità per la β -amiloide, che si è dimostrato utile nel localizzare i depositi di fibrille di ATTR e AL sia in vivo che ex vivo.^{88,89} Fra i parametri, l'indice di ritenzione miocardica tendeva negli studi ad essere più elevato nei soggetti con AL, tuttavia nessuno dei parametri è in grado di distinguere AL e ATTR. Lo stesso discorso vale per F-18-florbetaben.⁹⁰

2.10 Biopsia

Rimane un'ultima indagine da affrontare nell'ambito dell'iter diagnostico: la biopsia. La biopsia tissutale è di fatto ancora il gold standard per la diagnosi di amiloidosi, nonostante i notevoli progressi nell'imaging non invasivo. La sua importanza si esplica soprattutto in fase terapeutica, in quanto le terapie si diversificano in base al tipo di amiloidosi cardiaca, pertanto è fondamentale, specie nelle situazioni di diagnosi dubbia, andare ad individuare l'identità della proteina precursore delle fibrille. Una particolarità, infatti, è che le gammopatie monoclonali (MGUS) sono relativamente comuni anche in concomitanza dell'amiloidosi ATTR: AL e ATTR possono essere quindi confuse.⁹¹ Esistono inoltre due tipi di indagini bioptiche, differenti in termini di invasività e specificità, tuttavia le caratteristiche che permettono di riconoscere l'amiloide sono:

- riscontro di materiale extracellulare eosinofilo cellulare, amorfo e omogeneo;
- affinità per la colorazione Rosso Congo;
- birifrangenza sotto luce polarizzata.⁹²

L'identificazione delle proteine precursori può essere effettuata mediante immunocistochemica, microscopia elettronica o spettrometria di massa, a seconda delle competenze istituzionali. Tra i siti maggiormente utilizzati per il prelievo bioptico vi sono: cuore e rene, dotati di altissima sensibilità per tutte le forme di amiloidosi ma maggiormente invasivi; grasso sottocutaneo periombelicale/ghiandole salivari minori/tratto gastrointestinale (biopsia rettale), aventi una sensibilità abbastanza alta soprattutto nella forma AL, buona nella ATTRv, bassa nella ATTRwt; biopsia osteomidollare a livello della cresta iliaca, effettuata se presenti sia sospetto clinico di AL sia riscontri anomali di catene leggere, in modo da rilevare la discrasia plasmacellulare sottostante; legamento trasverso del carpo dopo chirurgia per CTS, effettuata solo in pochi centri e ancora in fase di miglioramento. A seguire vengono trattate le due più diffuse.

a) GPO

L'aspirato di grasso addominale (biopsia periombelicale) può essere eseguito anche a livello ambulatoriale e può arrivare ad avere una sensibilità del 70-90% per la diagnosi di AL.⁹¹ In quest'ultimo caso non è indispensabile infatti attuare una BEM, in quanto il coinvolgimento cardiaco può essere dedotto grazie alla combinazione di risultati coerenti di test cardiaci non invasivi e di una biopsia extracardiaca positiva. Per quanto riguarda le forme ATTRv e ATTRwt la sensibilità scende al 45% e 15%, ma in compenso la diagnosi si può raggiungere tramite metodiche non invasive e test genetico.

b) BEM

Se ci si trova di fronte a pazienti con discrasia plasmacellulare e risultati equivoci di imaging cardiaco, o se è necessario differenziare la forma AL da quella ATTR nel contesto di un MGUS, è importante eseguire una biopsia endomiocardica.⁹² L'istomorfologia mostra che l'amiloidosi cardiaca è sia una malattia miocardica che una malattia vascolare/microvascolare, ciascuna con diversi modelli di deposizione. Esistono due principali modelli interstiziali miocardici: pericellulare e nodulare/sostitutivo (*figura 14*). Nel primo, i depositi amiloidi sono distribuiti attorno ai singoli cardiomiociti, variano in spessore e possono coinvolgere aree di varia estensione, producendo così un aspetto simile al pizzo; nel secondo, gli aggregati amiloidi nodulari o micronodulari, grandi o piccoli, possono distorcere l'architettura miocardica o sostituire il miocardio. I due pattern sono frequentemente misti e l'estensione del deposito può essere classificata come lieve-focale, moderata-multifocale e grave-diffusa. L'entità del deposito può anche essere valutata morfometricamente: i depositi di amiloide possono essere visti in vasi di varie dimensioni, sia arteriosi che venosi, nei siti epicardici e intramiocardici e più estesamente nei vasi murali; i depositi possono coinvolgere in tutto o in parte la circonferenza dei vasi, essere localizzati solo nello strato intimale o nella tonaca media o nell'intera parete e causare vari gradi di stenosi fino all'ostruzione. Anche le reti capillari possono essere colpite e mostrare una densità ridotta. Inoltre, la

deposizione di amiloide si verifica anche nel subendocardio, di solito come aggregati nodulari associati o meno alla fibrosi, e nel tessuto epicardico. Nella cardiomiopatia amiloide l'esame istologico può anche fornire importanti informazioni sul danno: più frequentemente è cronico e il miocardio va incontro ad un rimodellamento caratterizzato da varie alterazioni morfologiche (es. attenuazione/atrofia, vacuolizzazione o ipertrofia reattiva dei cardiomiociti). Nei casi con significativo coinvolgimento microvascolare, è possibile riscontrare danni miocitari simili a quelli rinvenibili in corso di ischemia. Possono inoltre essere presenti infiltrati infiammatori associati ai depositi di amiloide, che variano da semplici linfociti e/o macrofagi a granulomi con cellule giganti.⁹¹

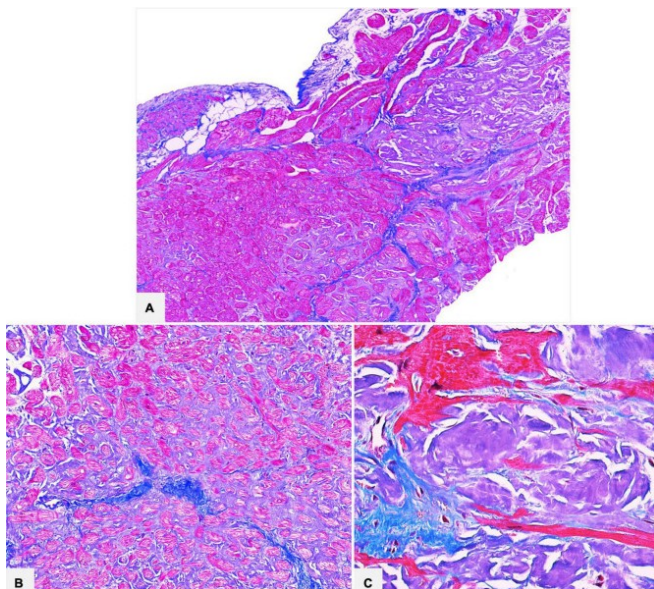


FIGURA 14: nell'immagine si vedono campioni cardiaci da cuori nativi di pazienti trapiantati per ATTR. I depositi miocardici interstiziali pericellulari e nodulari di amiloide caratteristici sono colorati di grigio-bluastro con tricromo Azan Mallory e sono ben differenziati dalla brillante deposizione di collagene blu (A: 50×; B: 100×; C: 400×).

2.11 Prognosi

Una volta completato l'iter diagnostico, ai fini della stratificazione del rischio e del tipo di terapia da intraprendere è necessario definire la prognosi del paziente. Negli anni si sono susseguiti diversi modelli di stadiazione, basati principalmente sui biomarkers come peptidi natriuretici, troponine o eGFR. Tuttavia i valori differiscono in base alla forma specifica di amiloidosi cardiaca.

a) AL

In Dispenzieri et al. il modello si basava su TnT, M-spike urinario (= quantità anomala di immunoglobulina monoclonale all'elettroforesi urinaria espressa in g/24 h), età e LVEF.⁹³ Palladini et al. dimostrarono invece che l'NT-proBNP era superiore agli indici ecocardiografici quanto a stratificazione del rischio: fu redatta così la prima versione del sistema di stadiazione Mayo (Mayo2004). I pazienti sono stati classificati in tre stadi utilizzando valori soglia per NT-proBNP (<332 ng/L) e TnT (<35 ng/L) o TnI (<100 ng/L). NT-proBNP e BNP mantengono inoltre il loro valore prognostico indipendentemente dall'eGFR, a patto che sia nel range 60-15 ml/min/1,73 m²; sotto tale range, solo il BNP è in grado di stratificare il rischio.⁴⁶ Passando al sistema di stadiazione dell'Università di Boston, questo offre una classificazione dei pazienti in tre stadi basata su TnI (> 0,1 ng/mL) e BNP (> 81 pg/mL).⁹⁴

Successivamente, da uno studio collaborativo europeo, è stato aggiunto uno stadio IIIb (TnT e NT-proBNP entrambi elevati e NT-proBNP >8500 ng/L) al Mayo2004: questo sistema di stadiazione è talvolta indicato come Mayo3b o Mayo2004/European.⁹⁵

Nel 2012 è stato sviluppato l'attuale gold standard, che considera anche la gravità della malattia clonale tramite il dosaggio delle FLC. Il sistema di punteggio Mayo2012 assegna 1 punto per ciascun biomarcatore al di sopra del limite di riferimento: NT-proBNP > 1800 ng/L, TnT > 25 ng/L e dFLC nel siero > 180 mg/L.⁹⁶

Altri biomarcatori sono stati valutati per la stratificazione prognostica nell'amiloidosi AL, come il soppressore solubile della tumorigenicità-2 (sST2), la galectina-3, il fattore di differenziazione della crescita-15 (GDF15). È stato confermato il valore prognostico additivo di sST2 e GDF15 a NT-proBNP e TnT.³⁶

b) ATTR

Secondo il sistema di classificazione di Grogan et al. vi sono tre stadi a seconda di: TnT > 50 ng/L e NT-proBNP > 3000 ng/L. La sopravvivenza a quattro anni via via si riduce al 57%, 42% e 18% rispettivamente per lo stadio I (= entrambi i valori al di sotto del cut-off), lo stadio II (uno sopra) e lo stadio III (entrambi sopra).⁹⁷

Gillmore et al. ha portato alla nascita del sistema di classificazione a tre stadi NAC (National Amyloidosis Centre ATTR staging system), valido sia per ATTRwt che per ATTRv, utilizzando: NT-proBNP > 3000 ng/L e GFR < 45 mL/min/1,73 m². Riguardo al genotipo, i pazienti con la variante TTR V122I (la mutazione genetica più comune associata ad ATTRv) hanno mostrato una prognosi peggiore in tutti e tre gli stadi rispetto ad ATTRwt.⁹⁸

Altri marcatori studiati sono stati: l'acido urico, emerso come predittore indipendente di morte; l'HGF, associato a peggiori esiti cardiovascolari, ma con miglioramento nullo delle prestazioni di stratificazione del rischio; il picco di consumo di ossigeno (VO₂) al test da sforzo cardiopolmonare, che da solo negli studi ha migliorato la stratificazione del rischio rispetto a Mayo2012 e al sistema di stadiazione NAC ATTR rispettivamente nei sottogruppi AL e ATTR; l'aggiunta di dose diuretica e della classe New York Heart Association (NYHA), che hanno migliorato le prestazioni prognostiche dei sistemi di stadiazione basati su biomarcatori attualmente utilizzati per amiloidosi cardiaca ATTR.³⁶

2.12 Follow-up

La gestione del paziente con amiloidosi cardiaca non è stata ancora definita ufficialmente o approvata da studi, tuttavia una linea comune è la seguente: visite ad intervalli di 6 mesi con elettrocardiogramma ed esami del sangue completi, inclusi NT-proBNP e troponina; annualmente vanno svolte ecocardiogramma ed ECG Holter 24h. Nella forma AL è importante la concomitante valutazione ematologica assieme al dosaggio delle catene leggere libere sieriche che viene svolto prima mensilmente e poi, una volta effettuato l'iniziale trattamento ematologico, ogni 3-4 mesi.¹⁷ Per l'amiloidosi ATTR, in particolare la forma ereditaria, oltre agli esami già citati, vanno fatte la valutazione neurologica e oftalmologica ogni 6 e 12 mesi rispettivamente. Se si tratta di portatori genetici di ATTRv asintomatici, è importante iniziare un follow-up a partire da 10 anni prima dell'età di insorgenza della malattia nel parente affetto o dell'età in cui di solito insorge quella specifica mutazione o non appena insorgono dei sintomi: esso consiste di ECG, esami del sangue con NT-proBNP e troponine, ecocardiografia e valutazione neurologica ed oftalmologica a cadenza annuale, holter ECG ogni due anni, scintigrafia/CMR ogni 3 anni o se uno degli esami elencati sopra dovesse risultare alterato.⁹⁹

A livello organizzativo la gestione di questi pazienti segue il modello a “rete” in cui i vari centri partecipano ognuno ad un pezzo del puzzle dell'iter diagnostico e i pazienti vengono indirizzati ai centri di riferimento regionali o nazionali più adatti per procedure selezionate o decisioni complesse.¹⁷

2.13 Terapia

Il trattamento dell'amiloidosi cardiaca va ad agire su due piani differenti della patologia: le complicanze/comorbidità e la deposizione di amiloide. Entrambe sono fondamentali in ottica di un miglioramento della qualità di vita, che in questi pazienti tende ad essere altrimenti sempre più scadente.

a) Complicanze e comorbidità

I diuretici e il controllo dei fluidi rappresentano la prima linea in caso di HF. Spesso si utilizza furosemide anche ad alte dosi, talvolta associata a spironolattone, in particolare nella popolazione con grave disfunzione diastolica o disfunzione sistolica. Tuttavia il trattamento diuretico deve essere condotto con cautela per evitare un'eccessiva diuresi con conseguente riduzione del precarico, peggioramento della funzionalità renale e dell'ipotensione ortostatica (AL e ATTRv). Attenzione va fatta ai beta-bloccanti (BB), i quali possono spesso portare a numerosi disturbi e complicanze a causa della fisiologia restrittiva della malattia. Per quanto riguarda le aritmie, la digossina può essere utilizzata con cautela, ma a dosi più basse e con frequenti monitoraggi. L'amiodarone, invece, è comunemente somministrato in caso di FA ed aritmie ventricolari, mentre altre opzioni sono il sotalolo e il dofetilide. L'anticoagulazione dei pazienti con FA è raccomandata indipendentemente dal CHA₂DS₂-VASc score e, anche dopo un corretto ciclo di anticoagulante prima della cardioversione pianificata, deve essere eseguito il controllo dell'ecocardiogramma transesofageo o la tomografia computerizzata per escludere i trombi atriali sinistri. L'ablazione transcateretere può essere una strategia fattibile per pazienti opportunamente selezionati.^{17,100} Per le aritmie ventricolari, le linee guida della Società Europea di Cardiologia 2015 raccomandano l'uso del solo ICD nella prevenzione secondaria in pazienti con concomitante instabilità emodinamica e che dovrebbero sopravvivere almeno 1 anno.¹⁰¹ Per i disordini di conduzione, secondo le linee guida standard, ci si avvale di PM e CRT. Spesso i pazienti anziani con ATTRwt hanno una concomitante stenosi aortica e la TAVI rappresenta la miglior soluzione. I vasocostrittori periferici (la midodrina, in

alternativa il fludrocortisone con cautela, e la piridostigmina anticolinergica) possono essere utilizzati per il supporto della pressione sanguigna se presente disfunzione autonoma e ipotensione sintomatica. Un'ultima terapia è il trapianto con tre raccomandazioni principali: pazienti selezionati con scompenso cardiaco da AL che non sono candidati per terapie specifiche a causa di compromissione cardiovascolare (il trapianto di cellule ematopoietiche autologhe va comunque pianificato); i pazienti con ATTR possono essere considerati; i pazienti con ATTRv possono essere presi in considerazione per il trapianto combinato di cuore e fegato.¹⁰⁰

b) AL

Il trattamento specifico dell'amiloidosi cardiaca AL è diretto da una équipe multidisciplinare, vista la maggior fragilità dei pazienti. Il cardiologo in particolare ha i seguenti obiettivi: la valutazione cardiaca per le strategie ematologiche iniziali, compresa la considerazione del trapianto di cellule staminali autologhe; la valutazione del trapianto di cuore; il monitoraggio cardiaco durante la chemioterapia. La terapia dipende dal grado di coinvolgimento cardiaco, e la risposta cardiaca è strettamente connessa alla risposta ematologica. Il trattamento di prima linea più comunemente usato è costituito da una combinazione di tre farmaci (CyBorD): un agente alchilante come la ciclofosfamide, l'inibitore reversibile del proteasoma bortezomib e uno steroide come il desametasone. Il tutto viene somministrato settimanalmente. Esistono poi delle seconde linee di terapia: una è Carfizomib, un inibitore del proteasoma di seconda generazione approvato per il trattamento del mieloma multiplo recidivante o refrattario, il quale può essere una opzione solo nell'amiloidosi AL con coinvolgimento neurologico e non cardiaco o renale a causa delle significative tossicità; un altro è Ixazomib, il primo inibitore del proteasoma di seconda generazione disponibile per via orale, per pazienti con AL refrattaria o recidivante, il quale però può dare cardiotossicità, pertanto va eseguito uno stretto monitoraggio. Importanti sono gli agenti immunomodulatori come talidomide, lenalidomide e pomalidomide, efficaci nelle forme refrattarie, utili per ridurre la resistenza agli agenti alchilanti, ma con

aumentato rischio di peggioramento della funzione cardiaca e di ipotensione. Un ruolo aggiuntivo è stato fornito dall'immunoterapia con Daratumumab, un IgG1κ che ha come bersaglio l'antigene di superficie CD38 delle plasmacellule e che, associato a CyBorD, porta a migliori livelli di risposta alla malattia. Infine l'ultima opzione terapeutica consiste nel trapianto autologo con cellule ematopoietiche.^{17,100}

c) ATTR

Nell'amiloidosi ATTR è importante intervenire nelle prime fasi, in quanto si ottiene una risposta di gran lunga migliore. Le terapie sono molteplici (*figura 15*) e possono agire a più livelli: il trapianto di fegato elimina la produzione di ATTR mutata, i silenziatori genici quella totale, gli stabilizzatori regolano quella circolante prevenendo la dissociazione e il clivaggio nei frammenti amiloidogenici. La prima opzione è il Tafamidis (acido 2-(3,5-dicloro-fenil)-benzossazolo-6-carbossilico), una piccola molecola che inibisce la dissociazione dei tetrameri di transtiretina legandosi selettivamente ai due siti di legame della tiroxina normalmente non occupati e stabilizza cineticamente i tetrameri TTRwt e TTRv, inibendo l'amiloidogenesi. Rappresenta quindi la prima linea di terapia nelle forme ATTRwt e ATTRv, a patto che quest'ultime non siano associate ad una polineuropatia di stadio > 1. Esiste poi Patisiran, un siRNA, che, tramite somministrazione endovenosa, può sopprimere la produzione sia di transtiretina normale che mutata dal momento che bersaglia il fegato; esso è particolarmente utile ed efficace per le forme ATTRv con associata polineuropatia di qualsiasi stadio. Infine c'è Inotersen, un oligonucleotide antisense che inattiva la sintesi della transtiretina in generale e che è utilizzabile solo nell'amiloidosi ATTRv associata a polineuropatia di qualsiasi grado senza coinvolgimento cardiaco.^{17,100}

Altre terapie potenziali sono: AG10, uno stabilizzatore della transtiretina, che imita una mutazione protettiva (Thr119Met); diflunisal, un FANS che si lega ai siti di legame della tiroxina della transtiretina, prevenendo la dissociazione del tetramero; il trapianto di fegato; doxiaciclina e acido tauroursodesossilico; polifenolo

epigallocatechin gallato, una catechina presente nel tè verde; Ancoramidis, uno stabilizzatore; anticorpi monoclonali anti transtiretina.^{17,100}

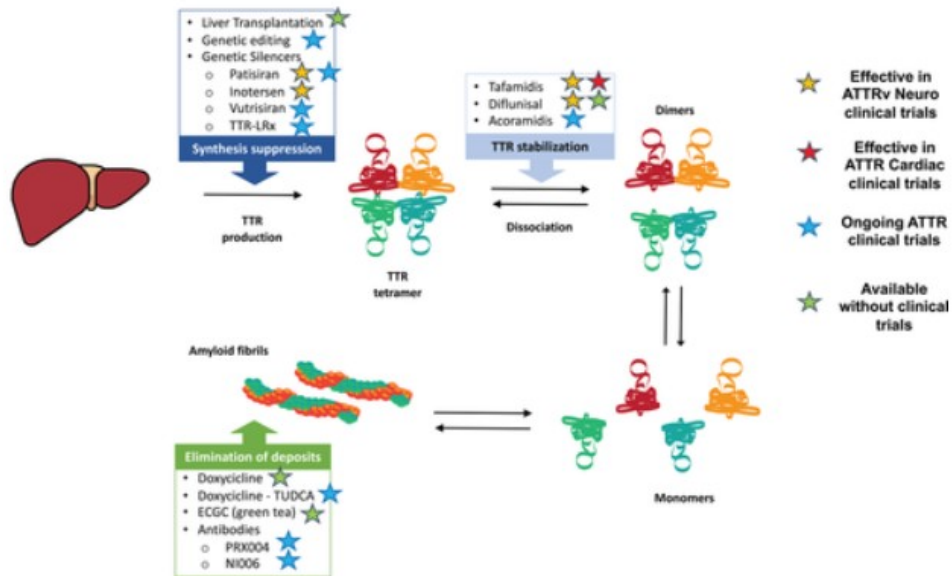


FIGURA 15: nell'immagine sono raffigurate le terapie attuali e future nel contesto dell'amiloidosi ATTR.

3. SCOPO DELLO STUDIO

Come abbiamo visto fino ad ora, l'amiloidosi è una patologia estremamente varia e allo stesso tempo, da un punto di vista prognostico e di qualità della vita, significativamente impattante. A ciò si aggiunge il fatto che non è così poco frequente come si pensava un tempo, anzi i casi di nuovo riscontro sono in continuo aumento grazie alle nuove metodologie diagnostiche. A tal proposito, il presente studio si focalizza proprio sull'utilizzo della risonanza magnetica cardiaca, che abbiamo visto avere una utilità in fase di sospetto assieme alle *red flags*, in fase di diagnosi nel momento in cui persista un dubbio sulla presenza di coinvolgimento cardiaco e in fase di follow-up nei pazienti portatori di mutazione alla transtiretina.

Lo scopo dello studio si può suddividere in diverse fasi:

- Raccolta di dati anamnestici-clinici-laboratoristici e di follow-up dei pazienti affetti da amiloidosi cardiaca;
- Osservazione e valutazione dei parametri alle immagini di risonanza magnetica dei pazienti con diagnosi di amiloidosi cardiaca;
- Focalizzazione sul parametro LGE (*late gadolinium enhancement*) e classificazione della tipologia di pattern;
- Confronto e correlazione tra pattern LGE riscontrato e dati anamnestici-clinici-laboratoristici e di follow-up raccolti;
- Significato del *late gadolinium enhancement* nell'amiloidosi cardiaca come potenziale marcatore diagnostico e prognostico;
- Confronto e correlazione tra pattern LGE riscontrato e dati istologici derivanti da biopsia endomiocardica.

4. MATERIALI E METODI

4.1 Popolazione dello studio

È stato condotto uno studio di tipo osservazionale e retrospettivo, nel quale i dati sono stati raccolti da pazienti d'età > 18 con amiloidosi cardiaca seguiti presso l'Ambulatorio Specialistico per l'Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova, in un periodo temporale che va dal 2013 fino al 31 dicembre 2022.

I criteri di inclusione dello studio sono stati i seguenti:

- Pazienti con diagnosi di amiloidosi cardiaca ATTR o AL, secondo linee guida.¹⁷

I criteri di esclusione, invece, sono stati i seguenti:

- Soggetti maschi e femmine di età ≥ 18 anni che, nonostante la diagnosi di Amiloidosi sistemica, da un punto di vista clinico-laboratoristico-strumentali non presentavano segni di interessamento cardiaco;
- Soggetti che alla diagnosi di amiloidosi cardiaca, a prescindere dalla sottoclassificazione, non possedevano un dato di risonanza magnetica cardiaca disponibile.

Per reperire informazioni utili alla raccolta dati ci si è avvalsi del programma informatico *Galileo*, in dotazione presso l'Azienda Ospedale-Università di Padova, e alla base dei parametri raccolti vi sono referti prodotti da specialisti che hanno contribuito alla gestione del paziente: tra questi figurano cardiologi, ematologi, neurologi, radiologi e medici di medicina di laboratorio. Riguardo agli esami di imaging ed ECG, qualora non fosse disponibile un referto ufficiale, son state prese a riferimento le note di diario clinico segnate nella cartella o si sono recuperate ed analizzate le immagini salvate nell'archivio PACS. Infine la raccolta dati è stata effettuata in modalità anonima in un apposito form nella piattaforma di *Microsoft Excel*, andando a distinguere per i vari pazienti i dati anamnestici, laboratoristici, di

risonanza magnetica cardiaca, elettrocardiografici e di follow-up. L'organizzazione nel dettaglio è stata la seguente.

4.2 Raccolta dati

Dati demografici:

- Età e sesso.

Dati anamnestici riguardanti la diagnosi di amiloidosi cardiaca:

- Data di diagnosi di amiloidosi cardiaca. Per le forme ATTRwt e ATTRv è stata considerata la data di esecuzione di scintigrafia con traccianti osteotropi con riscontro di captazione cardiaca, biopsia endomiocardica o biopsia del grasso periombelicale con riscontro di depositi di transtiretina o risonanza magnetica cardiaca compatibile con quadro di cardiomiopatia amiloidotica in quadro sistemico indicativo di amiloidosi cardiaca ATTR. Per la forma AL, invece, è stata considerata la data di esecuzione di biopsia endomiocardica o biopsia del grasso periombelicale con riscontro di depositi di catene leggere κ/λ , o risonanza magnetica cardiaca compatibile con quadro di cardiomiopatia amiloidotica in quadro sistemico indicativo di amiloidosi cardiaca AL;
- Data della prima valutazione ambulatoriale;
- Diagnosi di amiloidosi cardiaca AL, contrassegnata da un 1 se presente, 0 se assente;
- Diagnosi di amiloidosi cardiaca ATTRwt, contrassegnata da un 1 se presente, 0 se assente;
- Diagnosi di amiloidosi cardiaca ATTRv, contrassegnata da un 1 se presente, 0 se assente. Se presente, è stata specificata la mutazione.

Dati clinico-anamnestici:

- Diagnosi di ipertensione arteriosa: indipendentemente dal trattamento, contrassegnata da un 1 se presente, 0 se assente.
- Diagnosi di diabete mellito: indipendentemente da tipologia e trattamento, contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Storia di scompenso cardiaco: indipendentemente dal tipo e dal trattamento, contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- CAD significativa: presenza in anamnesi di pregresso infarto del miocardico o di un intervento di rivascolarizzazione, sia di tipo percutaneo che chirurgico, oppure presenza di CAD significativa alla coronarografia o alla coro-TC. La significatività è data da un coinvolgimento del tronco comune >50% o da un coinvolgimento degli altri vasi >70%. È stata contrassegnata con 1 la presenza di CAD significativa, con 0 la sua assenza;
- Storia di SCA: contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Vaso coronarico interessato: 1 se discendente anteriore, 2 se circonflessa, 3 se coronaria destra;
- Diagnosi di BPCO: contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Diagnosi di OSAS: contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Storia di embolia polmonare: contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Storia di ipertensione polmonare: contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Classe funzionale New York Heart Association (1-4);
- Storia di fibrillazione atriale: presenza precedentemente alla diagnosi o entro sei mesi dalla diagnosi di amiloidosi cardiaca di un episodio di fibrillazione atriale. Contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- Storia di intervento cardiocirurgico: indipendentemente dal tipo e dalla causa, contrassegnata da 1 se presente, 0 se assente;
- PM/ICD: posizionamento di pacemaker o di implantable cardioverter defibrillator precedentemente alla diagnosi o entro 6 mesi dalla diagnosi di amiloidosi cardiaca. Contrassegnato con 1 se PM/CRT-P, con 2 se ICD/CRT-P, con 0 se nessuno dei due.
- *Stage (n)*: è stata utilizzata la stadiazione NAC per i pazienti affetti da ATTR, Mayo 2004 per quelli affetti da AL, modificati con cut-off di TnI>100 ng/L. In

particolare, per ATTR: lo stadio 1 è $eGFR > 45 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ e $NT\text{-proBNP} < 3000 \text{ pg/ml}$; lo stadio 2 è almeno un parametro fra $eGFR < 45 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ e $NT\text{-proBNP} > 3000 \text{ pg/ml}$; lo stadio 3 è la contemporanea presenza di entrambi i parametri, quindi $eGFR < 45 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ e $NT\text{-proBNP} > 3000 \text{ pg/ml}$. Per AL: lo stadio 1 è $TnI < 100 \text{ ng/L}$ e $NT\text{-proBNP} < 332 \text{ ng/L}$ o $BNP < 81 \text{ ng/L}$; lo stadio 2 è almeno un parametro fra $TnI \geq 100 \text{ ng/L}$ e $NT\text{-proBNP} \geq 332 \text{ ng/L}$ o $BNP > 81 \text{ ng/L}$; lo stadio 3 è la contemporanea presenza dei parametri $TnI \geq 100 \text{ ng/L}$ e $NT\text{-proBNP} \geq 332 \text{ ng/L}$ o $BNP > 81 \text{ ng/L}$.^{46,94,98}

I dati sopra riportati sono stati ricavati dai referti delle visite effettuate presso l'Ambulatorio Specialistico dell'Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova, o, qualora possibile, sulle informazioni dei ricoveri dei pazienti contestuali alla data di diagnosi di amiloidosi cardiaca. Per il tutto è stato utilizzato il programma *Galileo*.

Dati laboratoristici:

- Emoglobina (espressa in g/dl);
- Quantità (g/dL) e tipologia di componente monoclonale;
- Catene leggere libere sieriche di tipo λ (mg/L);
- Catene leggere libere sieriche di tipo κ (mg/L);
- Differenza tra le catene leggere libere sieriche (mg/L);
- Proteinuria di Bence-Jones (si/no);
- Proteinuria delle 24h (g/24h);
- BNP, ovvero peptide natriuretico di tipo B (espresso in ng/L);
- NT-pro BNP, ovvero estremità N terminale del propeptide natriuretico di tipo B (espresso in ng/L);
- Creatinina plasmatica (espressa in mg/dl);
- eGFR, ovvero velocità di filtrazione glomerulare stimata, calcolata mediante formula MDRD (espressa in ml/min/m^2);
- Data di rilevazione della troponina;
- TnI, ovvero troponina I sierica, distinta ulteriormente se rilevata a Padova o non Padova (espressa in ng/L);

- TnT, ovvero troponina T sierica (ng/L).

Per i dati laboratoristici si è fatto riferimento agli esiti refertati in un periodo coerente con la data di diagnosi di amiloidosi cardiaca, ovvero entro 1 mese. Qualora non fosse stato possibile, si è fatto riferimento a dati di laboratorio il più vicini possibile temporalmente. Tutti i dati laboratoristici sono stati reperiti dall'archivio di *Galileo* ove possibile.

Dati di risonanza magnetica cardiaca:

- CMR: contrassegnata da 1 se effettuata, 0 se non effettuata;
- Sede: contrassegnato da 1 se in AOPD o OSA, 0 se al di fuori degli ospedali di Padova;
- Immagini disponibili: nel contesto dei pazienti che hanno svolto l'indagine al di fuori di Padova, è stato contrassegnato da 1 se presenti, 0 se assenti;
- Data della CMR.

Per coloro che possedevano le immagini di risonanza magnetica cardiaca, sono stati valutati i seguenti parametri.

- Spessore del setto interventricolare (mm);
- Diametro telediastolico (mm);
- Spessore della parete posteriore (mm);
- *Mitral annular plane systolic excursion* (MAPSE) planare e settale (mm);
- *Strain* in asse lungo ventricolare sinistro medio (-%);
- Volumi di atrio sinistro e destro in telesistole ventricolare indicizzato (ml/m^2);
- Frazioni di eiezione dell'atrio sinistro e destro (%);
- Frazione di eiezione del ventricolo sinistro (%);
- Volume telediastolico indicizzato del ventricolo sinistro (ml/m^2);
- Stroke volume in asse corto del ventricolo sinistro (ml);
- Massa ventricolare sinistra indicizzata (g/m^2);
- Volume telediastolico indicizzato del ventricolo destro (ml/m^2);
- Stroke volume del ventricolo destro (ml);
- Frazione di eiezione del ventricolo destro (%);

- Presenza di anomalie nella cinetica del gadolinio: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- LGE del ventricolo sinistro: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Pattern LGE del ventricolo sinistro: 0 se assente, 1 se subendocardico diffuso, 2 se trasmurale, 3 se atipico/non diagnostico;
- Per i pattern atipici è stata inserita anche una specifica descrizione degli stessi;
- LGE del ventricolo destro: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Versamento pericardico e/o pleurico: contrassegnati da 1 se presenti, 0 se assenti;
- Presenza di insufficienza mitralica significativa: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Mapping: contrassegnato da 1 se effettuato, 0 se assente;
- Nel caso del mapping effettuato sono stati valutati ove presenti: T1 in asse corto basale (ms), T1 in asse corto medio (ms), T1 in 4 camere (ms), T2 in 4 camere (ms), ECV (%).

I dati sulle risonanze magnetiche cardiache effettuate sono stati raccolti tramite l'utilizzo di *Galileo*. Le immagini sono state visionate tramite l'archivio PACS e il salvataggio dei dischi nel caso dei pazienti con CMR effettuata fuori Padova, con l'ausilio del programma *circle cardiovascular imaging 42*.

Dati elettrocardiografici:

- Data di esecuzione dell'ECG: è stato preso in considerazione il primo ECG con tracciato disponibile in un range temporale di 6 mesi prima e dopo la diagnosi di amiloidosi cardiaca. Se non visibile il tracciato, è stato preso in considerazione il solo referto, a prescindere che fosse presente nelle lettere delle visite ambulatoriali o nelle lettere di dimissione dei ricoveri, oppure il tracciato della prima visita ambulatoriale;
- Ritmo sinusale: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- FA/flutter atriale: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Device: contrassegnato da 1 se presente PM o ICD, 0 se assenti;
- Durata dell'onda P;

- Blocco interatriale parziale/avanzato: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Durata dell'intervallo PR;
- Blocco di branca sinistra: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Emiblocco anteriore sinistro: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Blocco di branca destra: contrassegnato da 1 se presente, 0 se assente;
- Durata del QRS;
- Bassi voltaggi nelle derivazioni periferiche: è stata presa come definizione la presenza, in tutte le derivazioni periferiche, di complessi QRS inferiori a 5 mm (0.5mV), includendo sia componenti positive sia negative del QRS. Contrassegnato da 1 se presenti, 0 se assenti;
- Segni di ipertrofia ventricolare destra: contrassegnato da 1 se presenti, 0 se assenti.
- Referto del tracciato elettrocardiografico.

I dati elettrocardiografici sono stati raccolti tramite l'utilizzo di *Galileo*. Le immagini sono state visionate tramite l'archivio PACS o tramite il tracciato presente a referto.

Follow-up:

- Decesso: contrassegnato da 1 se avvenuto, 0 se il paziente è ancora vivo;
- Data del decesso (gg/mm/aaaa);
- Valutazione urgente per scompenso cardiaco: contrassegnato da 1 se avvenuta, 0 se non avvenuta;
- Data della valutazione per scompenso cardiaco (gg/mm/aaaa);
- Ospedalizzazione per scompenso cardiaco: contrassegnato da 1 se avvenuta, 0 se mai avvenuta;
- Data di ospedalizzazione per scompenso cardiaco (gg/mm/aaaa);
- Data ultimo contatto (gg/mm/aaaa).

Il follow-up è rappresentato come la differenza in mesi tra la data di decesso o di ultimo contatto (in generale con AOPD, non necessariamente l'ultima visita

all'ambulatorio amiloidosi) e la data di diagnosi di amiloidosi cardiaca, considerato il 31 maggio 2023 come data ultima di *censoring*. Qualora non fossero stati disponibili dati circa l'eventuale ricovero per scompenso cardiaco dopo la diagnosi di amiloidosi cardiaca o il decesso del paziente in *Galileo*, si è fatto ricorso al contatto telefonico del paziente per sincerarsi sullo stato di salute.

Dati di patologia

I seguenti dati sono stati ricavati da un database a scopo integrativo contenente pazienti che hanno eseguito la BEM. I pazienti sottoposti alla biopsia sono stati ricavati dall'archivio informatizzato dell'Unità di Patologia Cardiovascolare. I campioni sono stati prelevati dal ventricolo destro alla giunzione tra setto ventricolare e parete libera anteriore e poi fissati in formalina tamponata al 10% (pH 7.35) e infine processati per l'esame istologico. Le sezioni sono state incluse in paraffina con spessore 5 µm, in seguito sono state sottoposte a tagli seriatati e colorate con ematossilina-eosina, tricromica di Heidenhain e infine colorazione rosso Congo ai fini di evidenziare le fibrille di amiloide. All'analisi istopatologica sono state valutate le seguenti caratteristiche:

- diametro medio dei cardiomiociti (ingrandimento 4x);
- vacuolizzazione dei cardiomiociti;
- necrosi dei cardiomiociti: la valutazione è stata qualitativa con l'osservazione di irregolarità di membrana, attenuazione delle miofibre o presenza di residui cellulari;
- quantità di amiloide: è stato utilizzato uno score quantitativo per valutare l'area interessata dalle fibrille (= % di amiloide sul frammento risultato più colpito dai depositi di fibrille);
- interessamento vascolare o peri-vascolare di amiloide: è stata valutata la presenza di depositi nei vasi intramiocardici;
- fibrosi: è stata valutata e quantificata l'area coinvolta (= % di fibrosi sostitutiva sul frammento su cui è stata valutata la quantità di amiloide);
- edema e infiammazione: è stata valutata la presenza di edema interstiziale e di cellule infiammatorie quali linfociti, granulociti, macrofagi o plasmacellule;

La tipizzazione dell'amiloide è stata effettuata con immunoelettromicroscopia dopo dissoluzione della paraffina e inclusione in resina. Gli anticorpi primari utilizzati sono stati anti-catene leggere κ e λ umane, anti-TTR umana.

4.3 Analisi statistica

Le variabili categoriali sono state presentate tramite numeri assoluti e percentuali (%); le variabili continue sono state presentate tramite mediane con intervalli interquartili (IQR). Per quanto riguarda le prime, nei confronti tra i gruppi sono stati utilizzati il test chi quadrato di Pearson e il test esatto di Fisher (nei casi di conteggio previsto < 5). Per il confronto delle variabili continue tra due gruppi, invece, sono stati utilizzati: il test t di Student non appaiato per campioni indipendenti per le variabili normalmente distribuite; il test U di Mann-Whitney per variabili non normalmente distribuite.

Il log-rank test e le analisi di sopravvivenza secondo Kaplan Meier sono state utilizzate per confrontare la sopravvivenza e le ospedalizzazioni per scompenso cardiaco dei pazienti con LGE atipico con quelli caratterizzati da LGE tipico (subendocardico/transmurale). Per le analisi multivariate è stato utilizzato l'Odds ratio (95% intervallo di confidenza).

I dati sono stati analizzati utilizzando SPSS versione 27.0 (IBM). Per tutte le analisi statistiche, $P < 0.05$ è stato considerato significativo.

5. RISULTATI

5.1 Dati demografici

La popolazione dello studio è stata ricavata dalla lista di pazienti seguiti presso l'Ambulatorio Specialistico per l'Amiloidosi Cardiaca dell'Azienda Ospedale-Università di Padova in possesso di almeno un esame di risonanza magnetica cardiaca. Sono stati pertanto esclusi:

- i pazienti che non possedevano dati di CMR;
- i pazienti senza una diagnosi conclamata;

Il pool finale è costituito da un totale di 95 pazienti, i quali sono stati suddivisi a loro volta in due gruppi sulla base del reperto di CMR:

- Pazienti con riscontro di LGE tipico (N=67), ossia a pattern subendocardico o transmurale;
- Pazienti con riscontro di LGE atipico (N=28), ossia assente o a pattern non subendocardico/transmurale;

I pazienti di sesso femminile sono risultati essere 19 (20% del totale), dei quali 10 con pattern tipico (14,9%) e 9 con pattern atipico (32,1%); i pazienti di sesso maschile sono 76 (80% del totale), rappresentando dunque la maggioranza, e, di questi, 57 possedevano un pattern tipico (85,1%), 19 un pattern atipico (67,9%); tramite il test chi-quadrato di Pearson è stato calcolato un valore di $p=0,056$. Per quanto riguarda l'età della popolazione totale, la mediana si attesta a 76 anni con un intervallo interquartile che va da 70 (25° percentile) a 80 anni (75° percentile). Quelli con pattern tipico hanno una mediana di 75 anni (IQR 71-80), mentre quelli con pattern atipico hanno una mediana di 76 (IQR 69-79); il valore di p calcolato è di 0,932.

È stato valutato anche il numero di pazienti, divisi in ATTR e AL, che hanno necessitato di una CMR nel nostro centro (AOPD), in base al periodo temporale in cui questa è stata eseguita (*figura 16*):

- periodo 2016 e antecedente: 3 pazienti con ATTR e 9 con AL;
- periodo 2017-2019: 14 pazienti con ATTR e 10 con AL;
- periodo 2020-2022: 40 pazienti con ATTR e 19 con AL.

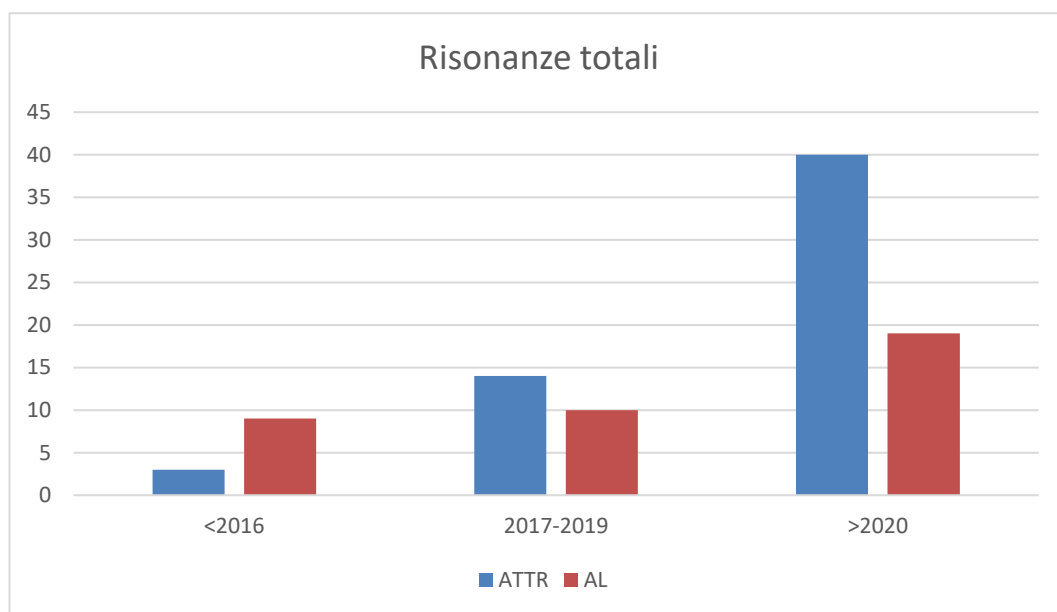


FIGURA 16: numero di pazienti (ATTR e AL) ai quali è stata eseguita una CMR per ogni intervallo temporale.

Inoltre, si è andati ad osservare la percentuale di pazienti con un determinato stadio NAC/Mayo2004 nei suddetti intervalli di tempo (*figura 17*):

- nel periodo 2016 e antecedenti, il 25% dei pazienti ha uno stadio 1, il 41.7% ha uno stadio 2 e il 33.3% ha uno stadio 3;
- nel periodo 2017-2019, il 33.3% dei pazienti ha uno stadio 1, il 38.1% ha uno stadio 2 e il 28.6% ha uno stadio 3;
- nel periodo 2020-2022, il 52% dei pazienti ha uno stadio 1, il 40% ha uno stadio 2 e l'8% ha uno stadio 3;

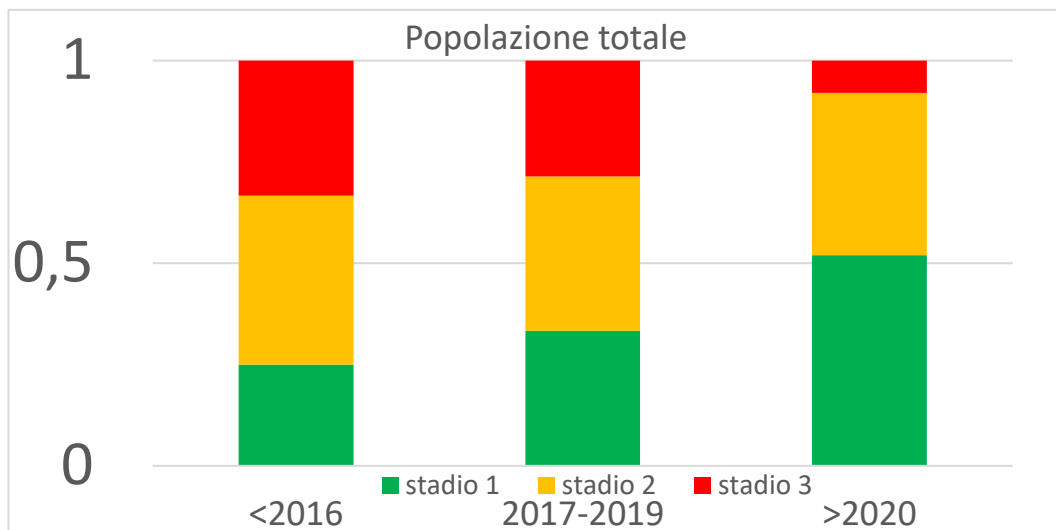


FIGURA 17: percentuale di pazienti divisi per stadio NAC/Mayo2004 per ogni intervallo temporale.

Infine si è analizzato il numero di pazienti con amiloidosi TTR e AL divisi per stadio in ogni intervallo temporale (*figure 18 e 19*):

- anni 2016 e antecedenti: 3 pazienti ATTR in stadio 1; tra gli AL, 5 pazienti in stadio 2 e 4 in stadio 3;
- 2017-2019: 8 pazienti ATTR in stadio 1 e 4 in stadio 2; tra gli AL, 4 pazienti in stadio 2 e 6 in stadio 3;
- 2020-2022: 26 pazienti ATTR in stadio 1, 5 in stadio 2 e 1 in stadio 3; tra gli AL, 15 pazienti in stadio 2 e 3 in stadio 3;

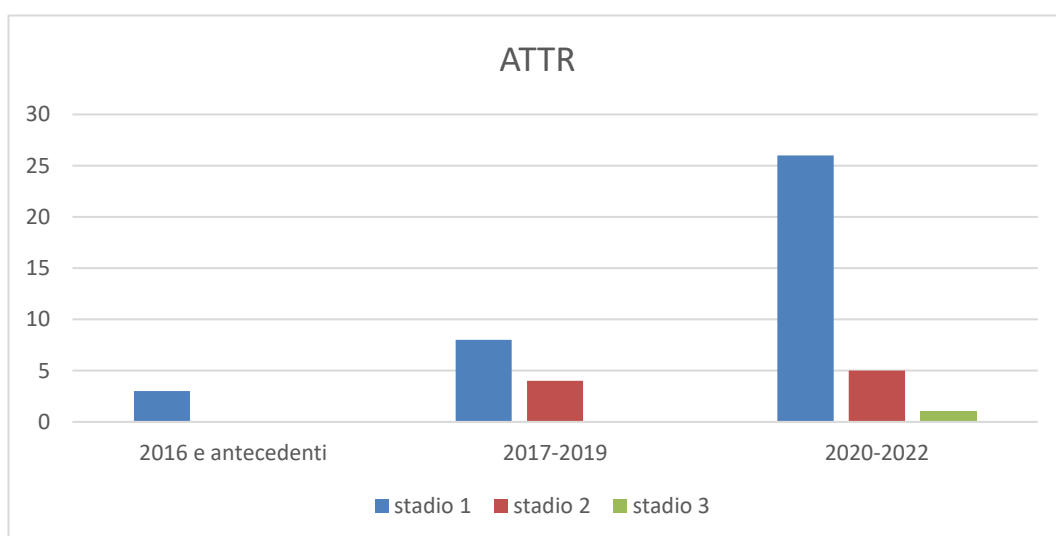


FIGURA 18: numero di pazienti con ATTR divisi per stadio e intervallo di tempo.

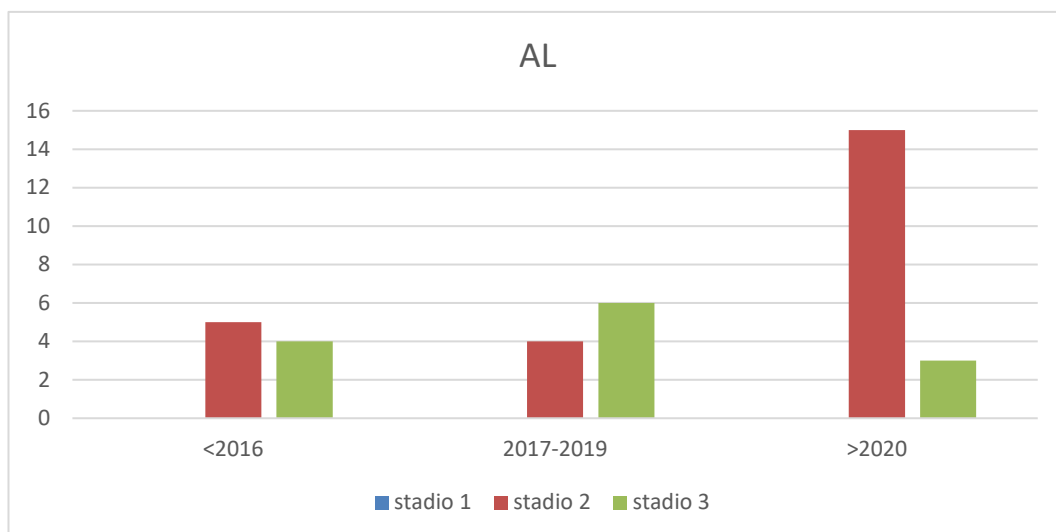


FIGURA 19: numero di pazienti con AL divisi per stadio e intervallo di tempo.

5.2 Dati clinico-anamnestici

a) Forma di amiloidosi cardiaca

Andando a focalizzarci sulla forma di amiloidosi cardiaca, l'AL è presente in 38 pazienti (40%), dei quali 19 con pattern tipico (28,4%) e 19 con pattern atipico (67,9%); 57 pazienti sono affetti invece da ATTR (60%), divisi nei due pattern in 48 tipici (71,6%) e 9 atipici (32,1%); è stato calcolato un valore di $p < 0,001$. Applicando una ulteriore suddivisione dei pazienti con ATTR, quelli con ATTRwt sono risultati essere 50 (52,6%), divisi in 43 tipici (64,2%) e 7 atipici (25%) con un valore di $p < 0,001$; infine i pazienti con ATTRv sono 7 (7,4%), di cui 5 tipici (7,5%) e 2 atipici (7,1%) con un valore di $p = 1$.

b) Comorbidità

I pazienti affetti da ipertensione sistemica sono risultati essere 51 (53,7%), di cui 37 tipici (55,2%) e 14 atipici (50%); quelli non affetti sono invece 44 (46,3%), divisi in 30 tipici (44,8%) e 14 atipici (50%). È stato calcolato un valore di $p = 0,642$. I

pazienti con anamnesi positiva per malattia diabetica sono 11 (11,6%), dei quali 7 con pattern tipico (10,4%) e 4 con pattern atipico (14,3%); al contrario, quelli che non presentavano la malattia sono 84 (88,4%), divisi in 60 tipici (89,6%) e 24 atipici (85,7%). Il valore di p calcolato tramite test di Fisher è stato di 0,726. Un'altra variabile presa in considerazione è stata la storia di scompenso cardiaco, riguardo la quale i pazienti che ne avevano una sono risultati essere 32 (33,7%), 26 con pattern tipico (38,8%) e 6 con pattern atipico (21,4%); quelli negativi per storia di HF sono 63 (66,3%), dei quali 41 tipici (61,2%) e 22 atipici (78,6%). È stato calcolato un valore di $p=0,102$. I pazienti con presenza di malattia coronarica (CAD) sono 13 (13,7%), suddivisi in 9 tipici (13,4%) e 4 atipici (14,3%); al contrario, quelli senza CAD sono 82 (86,3%), dei quali 58 con LGE tipico (86,6%) e 24 con LGE atipico (85,7%). Il conteggio previsto era di 3,83 dunque la p calcolata tramite test di Fisher è risultata pari a 1. Rimanendo nell'ambito della patologia coronarica, i pazienti con storia di sindrome coronarica acuta sono 7 (7,4%), dei quali 6 tipici (9%) e 1 atipico (3,6%); i pazienti negativi per SCA sono invece 88 (92,6%), divisi in 61 con pattern tipico (91%) e 27 con pattern atipico (96,4%). È stato calcolato un valore di $p=0,670$. Un parametro importante nella valutazione anche della qualità di vita e indice dello stato di salute del paziente è la classe NYHA. I pazienti con classe 1 sono risultati essere 15 (15,8%) contro i 55 di classe 2 (57,9%) e i 25 di classe 3 (26,3%); quelli con pattern tipico sono rispettivamente, in ordine di classe NYHA, 7 (10,4%), 41 (61,2%) e 19 (28,4%); infine quelli con pattern atipico sono rispettivamente 8 per la classe 1 (28,6%), 14 per la classe 2 (50%) e 6 per la classe 3 (21,4%). È stato calcolato un valore di $p=0,086$. Per quanto riguarda la storia di FA, pazienti positivi all'anamnesi sono 33 (34,7%), suddivisi in 28 tipici (41,8%) e 5 atipici (17,9%); quelli negativi per storia di FA sono invece 62 (65,3%), di cui 39 con pattern tipico (58,2%) e 23 con pattern atipico (82,1%). Tramite chi-quadrato di Pearson è stato calcolato un valore di $p=0,025$. Andando ad osservare la presenza di storia di interventi cardiocirurgici, nessuno dei pazienti della popolazione presa in esame la presenta. Se invece si va ad analizzare la presenza di PM o di ICD, ci sono 10 pazienti con tali device (10,5%), tutti con pattern tipico (14,9%); i pazienti senza device sono invece 85

(89,5%), dei quali 57 tipici (85,1%) e tutti e 28 gli atipici (100%). Il valore di p calcolato è pari a 0,031.

5.3 Dati laboratoristici

Tra le variabili laboratoristiche sono stati presi in considerazione i valori di Hb (g/dL), creatinina ($\mu\text{mol/L}$) e TnI misurata a Padova (ng/L).

Il valore mediano complessivo di Hb è stato di 13,9 g/dL (IQR 12,5-15,15 g/dL); nei due gruppi invece il valore mediano è stato negli LGE tipici di 13,9 g/dL (IQR 12,9-15,3 g/dL), negli LGE atipici di 13,5 g/dL (IQR 11,3-14,6 g/dL). È stato calcolato un valore di $p=0,09$. Riguardo la creatinina, il valore mediano complessivo è stato di 88,5 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 75-115 $\mu\text{mol/L}$); nei pazienti con pattern tipico è stato di 90 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 78-115 $\mu\text{mol/L}$), mentre nei pazienti con pattern atipico è stato di 84 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 66-120 $\mu\text{mol/L}$). il valore di p calcolato è pari a 0,191. Infine la TnI, misurata nel laboratorio analisi di AOPD, presenta un valore mediano di 58,5 ng/L (IQR 32,2-155,4 ng/L); nei pazienti con LGE tipico il valore mediano è di 77,6 ng/L (IQR 41,4-190,1 ng/L), mentre nei pazienti con LGE atipico il valore mediano è di 37,05 ng/L (IQR 14,5-87 ng/L). Il valore di p calcolato è di 0,004.

5.4 Dati elettrocardiografici

I pazienti con ritmo sinusale al tracciato elettrocardiografico sono 65 (68,4%) e, di questi, 40 presentano pattern tipico (59,7%), 25 pattern atipico (89,3%); i pazienti non in ritmo sinusale sono invece 30 (31,6%), suddivisi in 27 con LGE tipico (40,3%) e 3 con LGE atipico (10,7%). È stato calcolato un valore di $p=0,005$. Valutando invece la presenza di FA/flutter, si nota come sia presente in 24 pazienti

(25,3%), dei quali 21 con pattern tipico (31,3%) e 3 con pattern atipico (10,7%); i pazienti privi di FA/flutter sono 71 (74,7%), 46 tipici (68,7%) e 25 atipici (89,3%). In questo caso il valore di p si attesta a 0,035. Vi sono infine 8 pazienti con device (8,4%) contro gli 87 senza device (91,6%); tra i pattern tipici 6 hanno il device (9%) contro 61 che ne sono privi (91%), mentre tra i pattern atipici 2 hanno il device (7,1%) contro 26 che ne sono privi (92,9%). Il valore di p=1.

Tra le variabili continue sono stati considerati i valori dell'onda P (ms), l'intervallo PR (ms) e la durata del QRS (ms). Il valore mediano dell'onda P risulta 100 ms (IQR 80-120 ms); nei pazienti tipici risulta 100 ms (IQR 80-120 ms), mentre nei pazienti atipici risulta 90 ms (IQR 80-120 ms). Il valore di p equivale a 0,755. Il valore mediano dell'intervallo PR si attesta a 164 ms (IQR 0-198 ms), mentre nei pattern tipici equivale a 154 ms (IQR 0-200 ms) e negli atipici a 166 ms (149-197 ms), con un valore di p=0,480. Infine, quanto a durata del QRS, il valore mediano complessivo è di 104 ms (IQR 92-132 ms), nei pazienti tipici è 114 ms (IQR 99-138 ms), nei pazienti atipici è 98 ms (IQR 89-103 ms), con un valore di p=0,005.

Vi sono poi altre quattro variabili categoriali prese in esame: BBS (blocco di branca sinistro), EAS (emiblocco anteriore sinistro), BBD (blocco di branca destro) e LQRSV (bassi voltaggi periferici). I pazienti con BBS sono 7 (7,4%), tutti con pattern tipico all'LGE (10,4%); i pazienti senza BBS sono invece 88 (92,6%), dei quali 60 con pattern tipico (89,6%) e tutti e 28 quelli con pattern atipico (100%). Il valore stimato al test di Fisher di p=0,101. Per quanto riguarda il EAS, esso è presente in 16 pazienti (16,8%), 12 tipici (17,9%) e 4 atipici (14,3%); è assente invece in 79 pazienti (83,2%), dei quali 55 con LGE tipico (82,1%) e 24 con LGE atipico (85,7%). Il valore finale di p è 0,771. Il BBD si riscontra in 22 pazienti (23,2%), dei quali 16 con pattern tipico (23,9%) e 6 con pattern atipico (21,4%); non si riscontra invece in 73 pazienti (76,8%), suddivisi in 51 tipici (76,1%) e 22 atipici (78,6%). Il valore di p=0,796. Infine i bassi voltaggi sono presenti in 26 pazienti (27,4%) contro i 69 che non li hanno al tracciato (72,6%); tra i pattern tipici 17 pazienti li hanno (25,4%) e 50 ne sono privi (74,6%), mentre tra i pattern atipici 9 li hanno (32,1%) e 19 ne sono sprovvisti (67,9%). Il valore calcolato di p è 0,5.

A seguire, nella tabella I, sono riassunte le variabili non di RMC con i rispettivi risultati.

	Popolazione totale N=95	LGE tipico N=67	LGE atipico N=28	P value
Variabili demografiche				
Sesso femminile	19 (20)	10 (15)	9 (32)	0.056
Età anni	76 (70, 80)	75 (71, 80)	76 (69, 79)	0.932
Variabili clinico-anamnestiche				
AL	38 (40)	19 (28)	19 (68)	< 0.001
ATTRwt	50 (53)	43 (64)	7 (25)	< 0.001
ATTRv	7 (7)	5 (8)	2 (7)	1
Ipertensione sistemica	51 (54)	37 (55)	14 (50)	0.642
Diabete	11 (12)	7 (10)	4 (14)	0.726
Storia di scompenso cardiaco	32 (34)	26 (39)	6 (21)	0.102
CAD	13 (14)	9 (13)	4 (14)	1.000
Storia di SCA	7 (7)	6 (9)	1 (4)	0.670
NYHA 1	15 (16)	7 (10)	8 (29)	0.086
2	55 (58)	41 (61)	14 (50)	
3	25 (26)	19 (29)	6 (21)	
Storia di FA	33 (35)	28 (42)	5 (18)	0.025
Storia di cardiocirurgia	0 (0)	0 (0)	0 (0)	/
PM/ICD	10 (10)	10 (15)	0 (0)	0.031
Variabili laboratoristiche				
Hb g/dL	13.9 (12.5, 15.1)	13.9 (12.9, 15.3)	13.5 (11.3, 14.6)	0.09
Creatinine umol/L	88.5 (75, 115)	90 (78, 115)	84 (66, 120)	0.191
Hs-TnI ng/L	58.5 (32.2, 155.4)	77.6 (41.4, 190.1)	37.05 (14.5, 87)	0.004
Variabili elettrocardiografiche				
Ritmo sinusale	65 (68)	40 (60)	25 (89)	0.005
FA/flutter	24 (25)	21 (31)	3 (11)	0.035
Device	8 (8)	6 (9)	2 (7)	1.000
Onda P ms	100 (80, 120)	100 (80, 120)	90 (80, 120)	0.755
Intervallo PR ms	164 (0, 198)	154 (0, 200)	166 (149, 197)	0.480

Durata QRS ms	104 (92, 132)	114 (99, 138)	98 (89, 103)	0.005
BBS	7 (7)	7 (10)	0 (0)	0.101
EAS	16 (17)	12 (18)	4 (14)	0.771
BBD	22 (23)	16 (24)	6 (21)	0.796
LQRSV	26 (27)	17 (25)	9 (32)	0.500

TABELLA I: sono riassunte tutte le variabili analizzate, categoriali e continue, non appartenenti all'ambito della risonanza magnetica. Le variabili categoriche sono espresse in numero assoluto e percentuale. Le variabili continue sono espresse in mediana e range interquartile. Abbreviazioni: AL= amiloidosi da catene leggere; ATTRwt= amiloidosi da transtiretina wylde type; ATTRv= amiloidosi da transtiretina ereditaria; CAD= coronaropatia; SCA= sindrome coronarica acuta; NYHA= classe funzionale secondo New York Heart Association; FA= fibrillazione atriale; PM/ICD= pacemaker/defibrillatore cardiaco impiantabile; Hb= emoglobina; Hs-TnI= troponina I ad alta sensibilità; BBS= blocco di branca sinistra; EAS= emblocco anteriore sinistro; BBD= blocco di branca destro; LQRSV= bassi voltaggi;

5.5 Dati di risonanza magnetica cardiaca

La presenza di LGE al ventricolo sinistro è stata riscontrata in 91 pazienti (96%), dei quali 67 con pattern tipico (100%) e 24 con pattern atipico (86%); i pazienti con pattern LGE assente sono 4 (4%), quelli con pattern LGE atipico sono 24 (25%), quelli con pattern LGE subendocardico sono 27 (29%) e quelli con pattern LGE transmurale sono 40 (42%). La presenza di LGE al ventricolo destro è stata riscontrata in 58 pazienti (61,1%), dei quali 54 con pattern tipico (80,6%) e 4 con pattern atipico (14,3%); i pazienti privi di RVLGE sono invece 37 (38,9%), di cui 13 tipici (19,4%) e 24 atipici (85,7%). È stato calcolato un valore di $p < 0,001$. Per quanto riguarda i versamenti, 23 pazienti presentano versamento pericardico (24,2%) e, tra questi, 18 hanno LGE tipico (26,9%) e 5 LGE atipico (17,9%); al contrario, i pazienti senza versamento pericardico sono 72 (75,8%), di cui 49 tipici (73,1%) e 23 atipici (82,1%). Per questa categoria il valore di p è 0,350. Il versamento pleurico è presente invece in 25 pazienti (26,3%), dei quali 20 con pattern tipico (29,9%) e 5 con pattern atipico (17,9%); i pazienti senza versamento pleurico sono 70 (73,7%), divisi in 47 tipici (70,1%) e 23 atipici (82,1%). Il valore calcolato di p è 0,226. È stata valutata anche la presenza di insufficienza mitralica

significativa: è stata riscontrata in 4 pazienti (4,2%), dei quali 3 con pattern tipico (4,5%) e 1 con pattern atipico (3,6%); al contrario 91 pazienti ne sono sprovvisti (95,8%), di cui 64 tipici (95,5%) e 27 atipici (96,4%). La $p=1,000$.

Tra le variabili continue è stata effettuata la misurazione del setto interventricolare, il quale ha un valore mediano complessivo di 16 mm (IQR 13-18 mm), nei pazienti tipici 17 mm (IQR 14-19 mm) e nei pazienti atipici 13 mm (IQR 12-16 mm); è risultato un valore di $p<0,001$. Il valore mediano generale del diametro telediastolico è 45 mm (IQR 40-49 mm); nei tipici è risultato invece 45 mm (IQR 40-49 mm), negli atipici 45 mm (IQR 42-50 mm), con un valore di $p=0,851$. È stato misurato anche lo spessore della parete posteriore, il quale ha un valore mediano complessivo di 13 mm (IQR 11-17 mm), mentre è risultato nei tipici 14 mm (IQR 12-17 mm) e negli atipici 10 mm (IQR 9-13 mm), con un valore di $p<0,001$. È stato ricavato un valore mediano complessivo di MAPSE laterale di 9,45 mm (IQR 7-11,8 mm), mentre nei soggetti con pattern tipico è risultato essere 8,9 mm (IQR 6,2-10,4 mm) contro il valore di 11,7 mm (IQR 9,15-14,45 mm) dei soggetti con pattern atipico; il valore di p è $<0,001$. Riguardo al MAPSE settale invece, il valore mediano complessivo è 7,3 mm (IQR 5,2-10,4 mm), nei pazienti tipici è 6,7 mm (IQR 4,9-8,1 mm) e in quelli atipici è 9,5 mm (IQR 7,65-12,1 mm), con un valore di $p<0,001$. Lo *strain* in asse lungo è associato ad una mediana complessiva di -8,55 (IQR -6,5 e -11,1); nei pazienti con pattern tipico ha un valore mediano di -7,7 (IQR -5,5 e -9,1), mentre in quelli atipici ha un valore di -12,4 (IQR -10,2 e -15,3), con un valore di $p<0,001$.

Focalizzandoci sull'atrio sinistro, il volume in LVES/BSA ha un valore mediano complessivo di 48 ml/m² (IQR 35-59 ml/m²), nei tipici ha un valore di 51 ml/m² (IQR 39-63 ml/m²), contro il 39 ml/m² (IQR 28-52 ml/m²) negli atipici; la p è uguale a 0,041. La frazione di eiezione ha invece un valore mediano complessivo di 35% (IQR 24-49%), mentre nei soggetti tipici risulta 31% (IQR 21-43) e in quelli atipici 49% (IQR 33-60%), con un valore di $p<0,001$.

Riguardo l'atrio destro, il volume in LVES/BSA ha un valore mediano complessivo di 45 ml/m² (IQR 33-57 ml/m²), mentre nei tipici ha un valore di 47 ml/m² (IQR 34-58 ml/m²) e negli atipici di 42 ml/m² (IQR 33-50 ml/m²), con un valore di

$p=0,348$. La frazione di eiezione complessivamente ha una mediana di 40% (IQR 27-53%), nei pazienti con LGE tipico invece ha una mediana di 38% (IQR 26-50%) e in quelli con LGE atipico di 49% (IQR 38-60%), con un valore di $p=0,002$.

Passando al ventricolo sinistro, il valore mediano complessivo della frazione di eiezione è risultato essere 52% (IQR 45-58%), nei pazienti tipici è 50% (IQR 43-57%) e nei pazienti atipici è 56% (IQR 51-63%), con un valore di $p=0,007$. Il volume telediastolico indicizzato ha invece una mediana complessiva di 78 ml/m² (IQR 71-93 ml/m²), mentre nei tipici equivale a 81 ml/m² (IQR 72-96 ml/m²) e negli atipici a 73 ml/m² (IQR 66-84 ml/m²), con un valore di $p=0,050$. Lo *stroke volume* in asse corto ha una mediana complessiva di 80 ml (IQR 64-92 ml), che diventa nei soggetti con pattern tipico 79 ml (IQR 63-94 ml) e in quelli con pattern atipico 83 ml (66-90 ml), con un valore di $p=0,857$. Infine la massa ventricolare sinistra indicizzata ha una mediana complessiva di 85 g/m² (IQR 68-102 g/m²), mentre nei pazienti tipici ha un valore di 93 g/m² (IQR 76-111 g/m²) e in quelli atipici di 67 g/m² (IQR 54-76 g/m²), con un valore di $p<0,001$.

Riguardo al ventricolo destro, il volume telediastolico indicizzato ha una mediana complessiva di 78 ml/m² (IQR 66-95 ml/m²), mentre nei tipici ha un valore di 81 ml/m² (IQR 67-97 ml/m²) e negli atipici di 73 ml/m² (IQR 62-94 ml/m²), con un valore di $p=0,191$. Lo *stroke volume* ha invece una mediana complessiva di 78 ml (IQR 66-94 ml), mentre nei soggetti con pattern tipico è di 78 ml (IQR 66-92 ml) e in quelli con pattern atipico di 77 ml (66-99 ml), con un valore di $p=0,925$. Infine la frazione di eiezione ventricolare destra ha un valore mediano complessivo di 53% (IQR 46-60%), mentre nei soggetti tipici è 51% (IQR 43-57%) e in quelli atipici 58% (IQR 52-64%), con un valore di $p=0,003$. Sono stati raccolti anche dei valori di mapping. Il T1 in asse corto medio ha complessivamente una mediana di 1142 ms (IQR 1100-1169 ms), nei pazienti con LGE tipico il valore è 1153 ms (IQR 1124-1180 ms) contro il valore di 1089 ms (IQR 1064-1120 ms) in quelli con LGE atipico; il valore di p è 0,001. Il T2 in 4 camere ha un valore mediano complessivo di 52 ms (IQR 50-53 ms), mentre nei soggetti tipici è 53 ms (IQR 49-53 ms) e in quelli atipici 52 ms (IQR 51-53 ms); tuttavia la numerosità dei pazienti con il parametro non è stata sufficiente. Infine il volume extracellulare ha raggiunto un

valore mediano di 43% (IQR 36-52%) in generale, di 48% (IQR 42-53%) nei pattern tipici e di 36% (IQR 34-41%) nei pattern atipici, con un valore di $p=0,037$.

Per quanto riguarda i pattern di LGE riscontrati, ne è stata osservata la distribuzione (figura 20) all'interno di:

- popolazione generale dello studio: 4% assente, 25% atipico, 42% subendocardico diffuso, 29% transmurale;
- popolazione dei pazienti ATTR: 2% assente, 14% atipico, 51% subendocardico diffuso, 33% transmurale;
- popolazione dei pazienti AL: 8% assente, 21% atipico, 42% subendocardico diffuso, 29% transmurale;

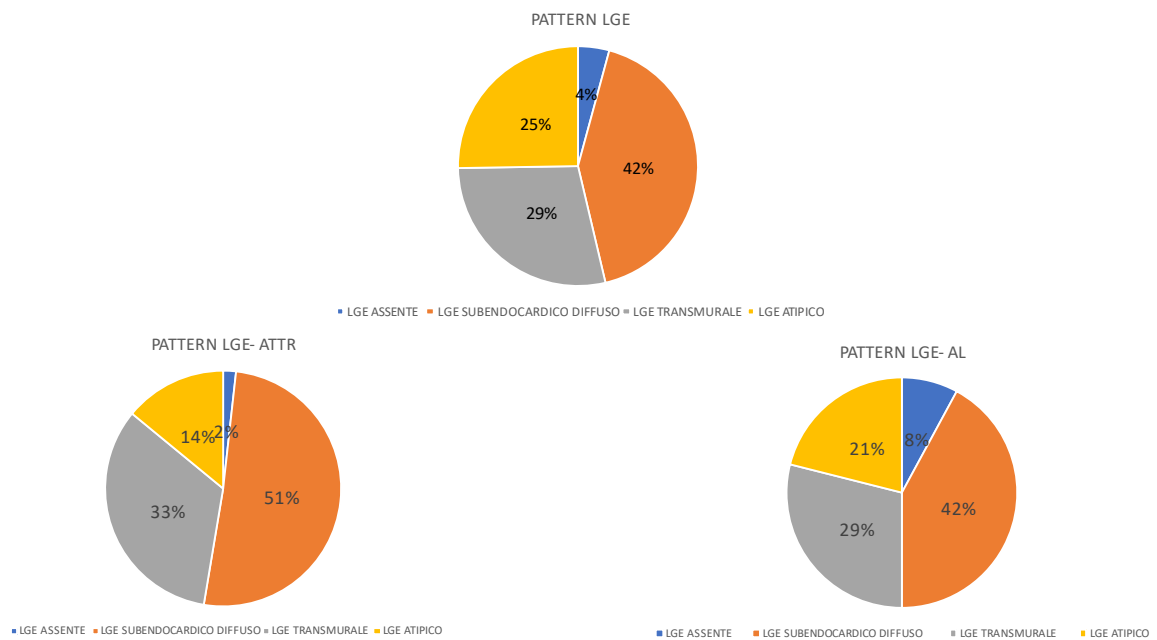


FIGURA 20: distribuzione dei diversi pattern LGE nella popolazione generale dello studio (in alto), nei pazienti ATTR (a sinistra) e nei pazienti AL (a destra). Abbreviazioni come in tabella I.

A seguire, nella tabella II, sono riassunte le variabili di CMR con i rispettivi risultati.

	Overall N=95	LGE tipico N=67	LGE atipico N=28	P value
Variabili di CMR				
LVLGE	91 (96)	67 (100)	24 (86)	-
LGE assente	4 (4)	-	-	-
LGE atipico	24 (25)	-	-	-
LGE subendocardico	27 (29)	-	-	-
LGE trammurale	40 (42)	-	-	-
RVLGE	58 (61)	54 (81)	4 (14)	< 0.001
Versamento pericardico	23 (24)	18 (27)	5 (18)	0.350
Versamento pleurico	25 (26)	20 (30)	5 (18)	0.226
Insufficienza mitralica significativa	4 (4)	3 (4)	1 (4)	1.000
Spessore SIV mm	16 (13, 18)	17 (14, 19)	13 (12, 16)	< 0.001
DTD mm	45 (40, 49)	45 (40, 49)	45 (42, 50)	0.851
Spessore PP mm	13 (11, 17)	14 (12, 17)	10 (9, 13)	< 0.001
MAPSE lat mm	9.45 (7, 11.8)	8.9 (6.2, 10.4)	11.7 (9.15, 14.45)	< 0.001
MAPSE sept mm	7.3 (5.2, 10.4)	6.7 (4.9, 8.1)	9.5 (7.65, 12.1)	< 0.001
Strain asse lungo	-8.55 (-6.5, -11.1)	-7.7 (-5.5, -9.1)	-12.4 (-10.2, -15.3)	< 0.001
Vol LA LVES/BSA ml/m ²	48 (35, 59)	51 (39, 63)	39 (28, 52)	0.041
FE LA %	35 (24, 49)	31 (21, 43)	49 (33, 60)	< 0.001
Vol RA LVES/BSA ml/m ²	45 (33, 57)	47 (34, 58)	42 (33, 50)	0.348
FE RA %	40 (27, 53)	38 (26, 50)	49 (38, 60)	0.002
LVEF %	52 (45, 58)	50 (43, 57)	56 (51, 63)	0.007
LVEDi ml/m ²	78 (71, 93)	81 (72, 96)	73 (66, 84)	0.050
SVSAX ml	80 (64, 92)	79 (63, 94)	83 (66, 90)	0.857
LVmassi g/m ²	85 (68, 102)	93 (76, 111)	67 (54, 76)	< 0.001
RVEDVi ml/m ²	78 (66, 95)	81 (67, 97)	73 (62, 94)	0.191
RVSX ml	78 (66, 94)	78 (66, 92)	77 (66, 99)	0.925
RVEF %	53 (46, 60)	51 (43, 57)	58 (52, 64)	0.003
T1SAXmed ms	1142 (1100, 1169)	1153 (1124, 1180)	1089 (1064, 1120)	0.001

T24cam ms	52 (50, 53)	53 (49, 53)	52 (51, 53)	/
ECV %	43 (36, 52)	48 (42, 53)	36 (34, 41)	0.037

TABELLA II: sono riassunte tutte le variabili analizzate, categoriali e continue, appartenenti all'ambito della risonanza magnetica. Le variabili categoriche sono espresse in numero assoluto e percentuale. Le variabili continue sono espresse in mediana e range interquartile. Abbreviazioni: LGE= late gadolinium enhancement; LVLGE= late gadolinium enhancement del ventricolo sinistro; RVLGE= late gadolinium enhancement del ventricolo destro; SIV= setto interventricolare; DTD= diametro telediastolico; PP= parete posteriore; MAPSE lat/sept= *lateral/septal mitral annular plane systolic excursion*; Vol LA LVES/BSA= volume atrio sinistro in telesistole ventricolare sinistra su area di superficie corporea; FE LA= frazione di eiezione dell'atrio sinistro; Vol RA LVES/BSA= volume atrio destro in telesistole ventricolare sinistra su area di superficie corporea; FE RA= frazione di eiezione dell'atrio destro; LVEF= frazione di eiezione del ventricolo sinistro; LVEDi= volume telediastolico ventricolare sinistro indicizzato; SVSAX= *stroke volume short axis*; LVmassi= massa ventricolare sinistra indicizzata; RVEDVi= volume telediastolico ventricolare destro indicizzato; RVSV= *stroke volume* del ventricolo destro; RVEF= frazione di eiezione del ventricolo destro; T1SAXmed= tempo T1 in asse corto medio; T24cam= tempo T2 in 4 camere; ECV= volume extracellulare.

Andando ad analizzare la percentuale di pazienti con pattern LGE atipico e tipico distribuiti per gli intervalli di tempo visti in precedenza e nelle varie popolazioni esaminate, ossia complessiva (*figura 21*), ATTR (*figura 22*) e AL (*figura 23*), si riscontrano i seguenti risultati:

- 2016 e antecedenti: 41.7% atipico vs 58.3% tipico (popolazione complessiva); 33.3% atipico vs 66.7% tipico (ATTR); 44.4% atipico vs 55.6% tipico (AL);
- 2017-2019: 29.2% atipico vs 70.8% tipico (popolazione complessiva); 14.3% atipico vs 85.7% tipico (ATTR); 50% atipico vs 50% tipico (AL);
- 2020-2022: 27.1% atipico vs 72.9% tipico (popolazione complessiva); 15% atipico vs 85% tipico (ATTR); 52.6% atipico vs 47.3% tipico (AL).

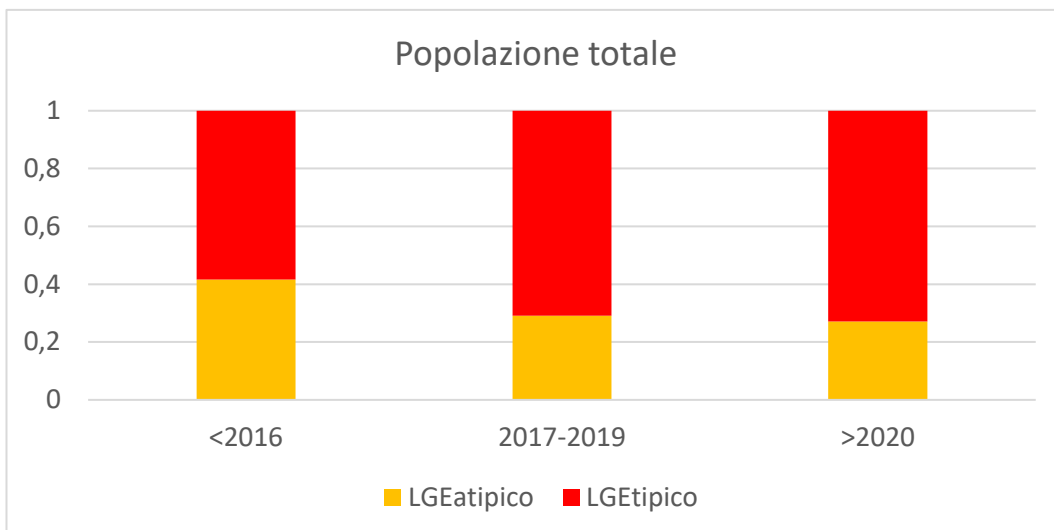


FIGURA 21: distribuzione percentuale dei pattern LGE atipico e tipico nella popolazione generale nei diversi intervalli temporali.

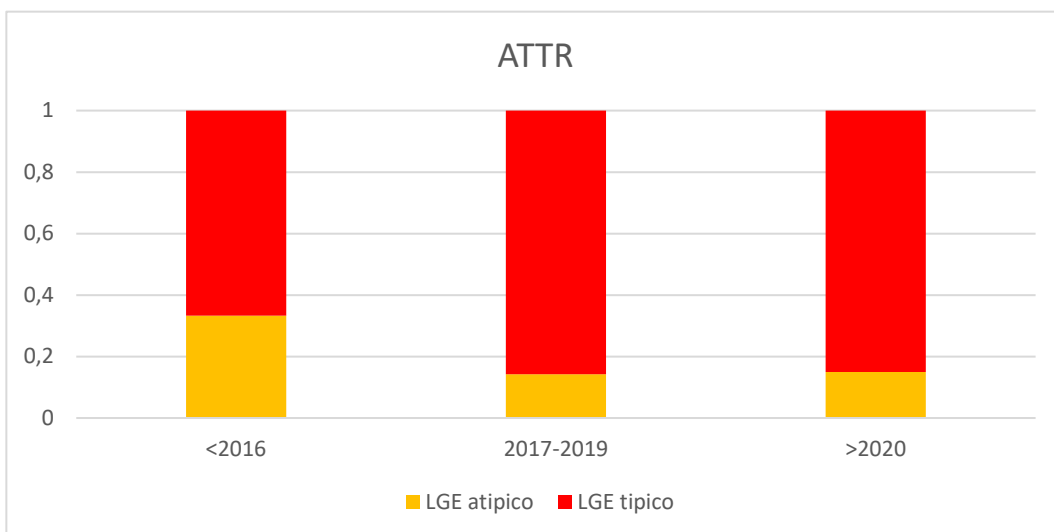


FIGURA 22: distribuzione percentuale dei pattern LGE atipico e tipico nella popolazione ATTR nei diversi intervalli temporali.

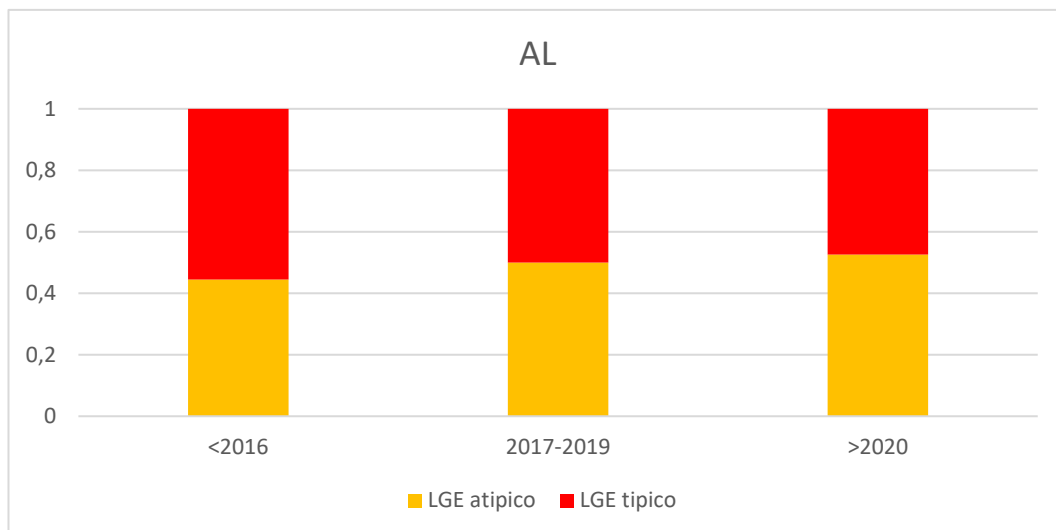


FIGURA 23: distribuzione percentuale dei pattern LGE atipico e tipico nella popolazione AL nei diversi intervalli temporali.

Infine è stata osservata la distribuzione dei due pattern nelle tre diverse popolazioni in riferimento al tipo di stadio (*figure 24, 25, 26*):

- stadio 1: 16.7% atipico vs 83.3% tipico (popolazione complessiva); 16.7% atipico vs 83.3% tipico (ATTR); 0% atipico e tipico (AL);
- stadio 2: 48.5% atipico vs 51.5% tipico (popolazione complessiva); 100% tipico (ATTR); 66.7% atipico vs 33.3% tipico (AL);
- stadio 3: 21.4% atipico vs 78.6% tipico (popolazione complessiva); 100% tipico (ATTR); 23.1% atipico vs 76.9% tipico (AL);

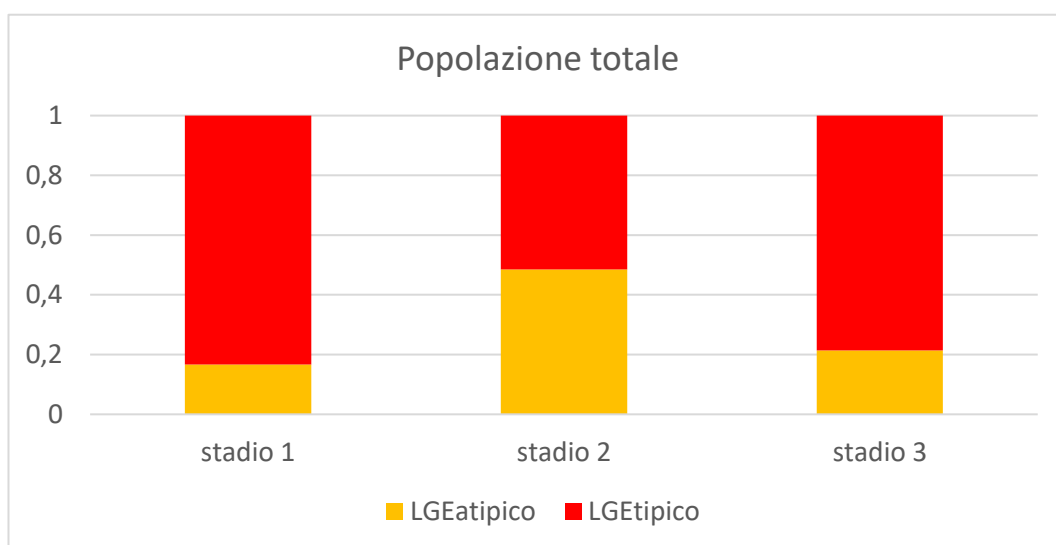


FIGURA 24: distribuzione dei due pattern nei tre stadi nella popolazione generale.

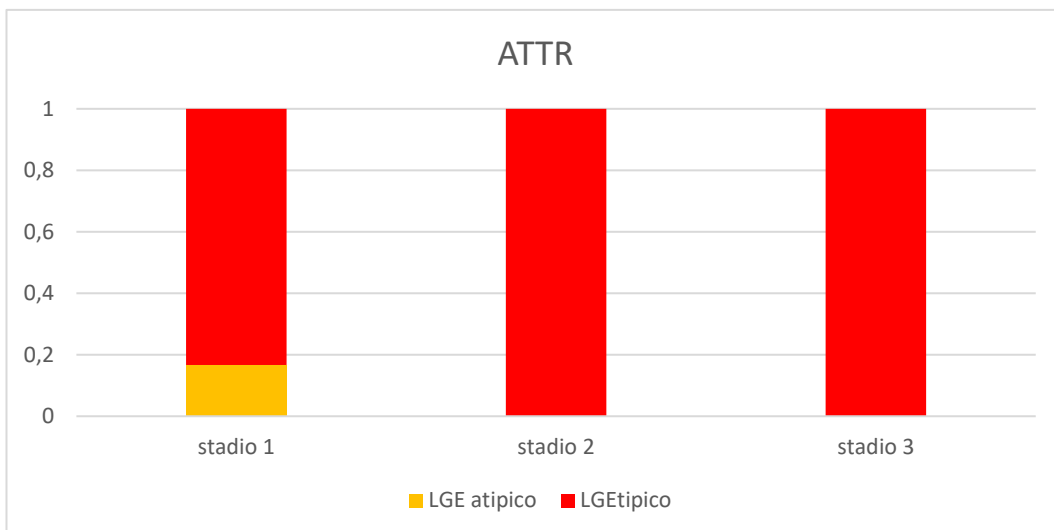


FIGURA 25: distribuzione dei due pattern nei tre stadi nella popolazione ATTR.

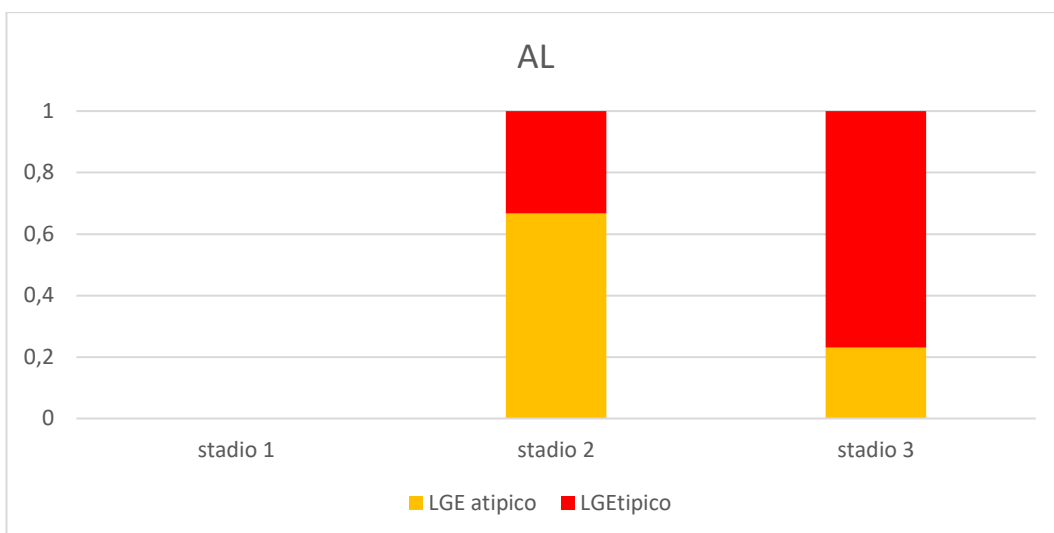


FIGURA 26: distribuzione dei due pattern nei tre stadi nella popolazione AL.

5.6 Analisi di sopravvivenza

Ponendo a confronto i due gruppi di pazienti quanto a sopravvivenza in termini di mortalità, si sono verificati 6 eventi negli LGE atipici (N=28) e 17 nei LGE tipici (N=67); il test Log Rank (Mantel-Cox) ha portato ad un valore non significativo ($p=0,650$) (figura 27).

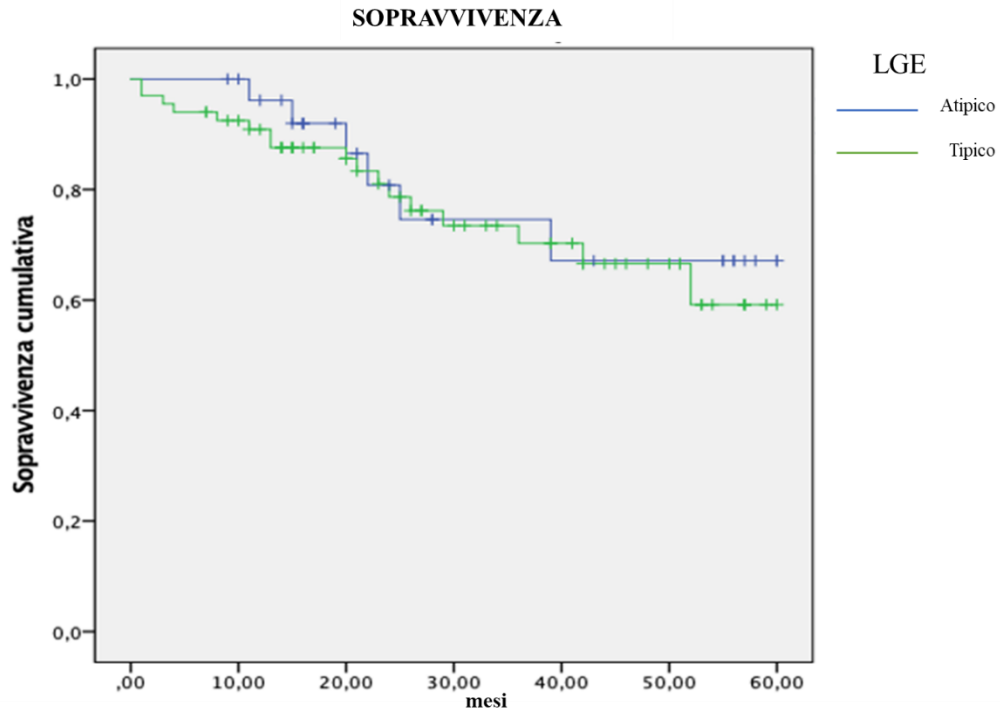


FIGURA 27: curve di sopravvivenza a confronto in termini di mortalità tra soggetti con LGE atipico (blu) e tipico (verde).

Se invece si va ad analizzare la curva di sopravvivenza in funzione degli eventi di ricovero per scompenso cardiaco, si hanno i seguenti risultati: 7 eventi tra i soggetti atipici (N=28) contro 35 eventi tra i soggetti tipici (N=35). In questo caso il test Log Rank (Mantel-Cox) ha raggiunto un valore significativo ($p=0,024$) (figura 28).

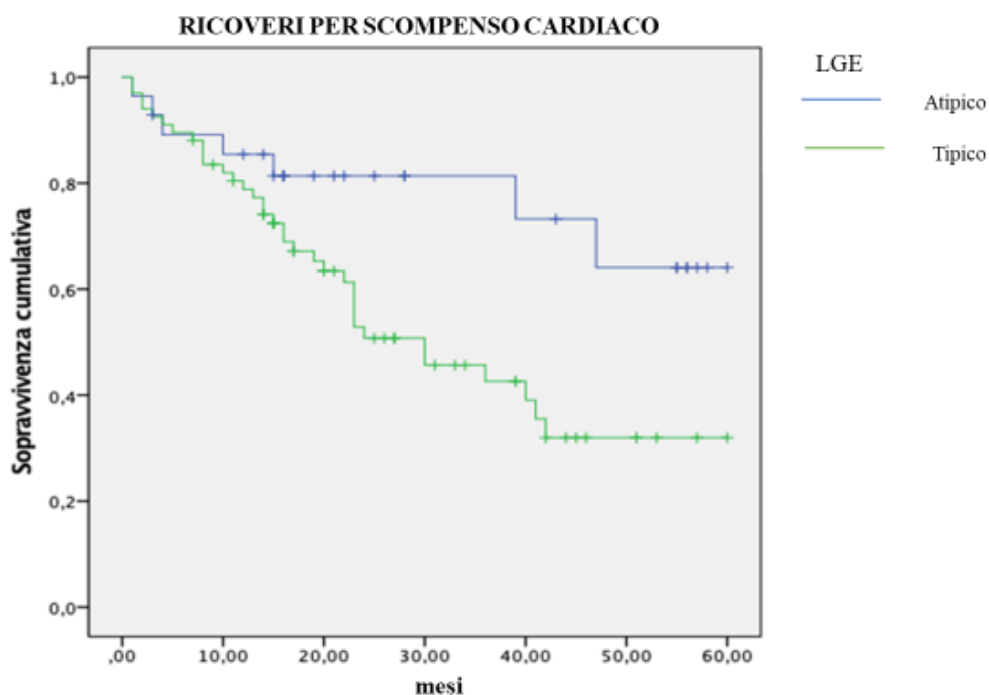


FIGURA 28: curve relative ad ospedalizzazione per scompenso cardiaco tra soggetti atipici (blu) e tipici (verde).

È stata poi osservata la sopravvivenza del pattern atipico in termini di mortalità nelle popolazioni rispettivamente di pazienti ATTR e AL (*figure 29 e 30*) con i seguenti risultati:

- ATTR: nessun evento negli atipici e Log Rank (Mantel-Cox) con significatività di 0,128;
- AL: 6 eventi negli atipici (N=19) e 5 nei tipici (N=19) con Log Rank (Mantel-Cox) con significatività di 0,764;

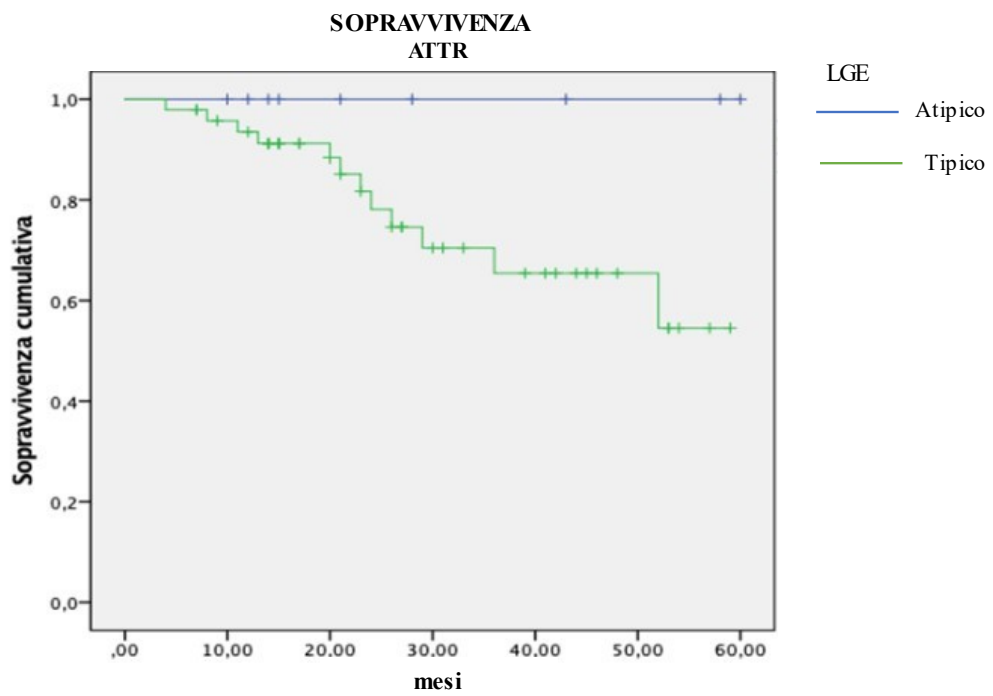


FIGURA 29: curva di sopravvivenza in termini di mortalità del pattern atipico nella popolazione ATTR.

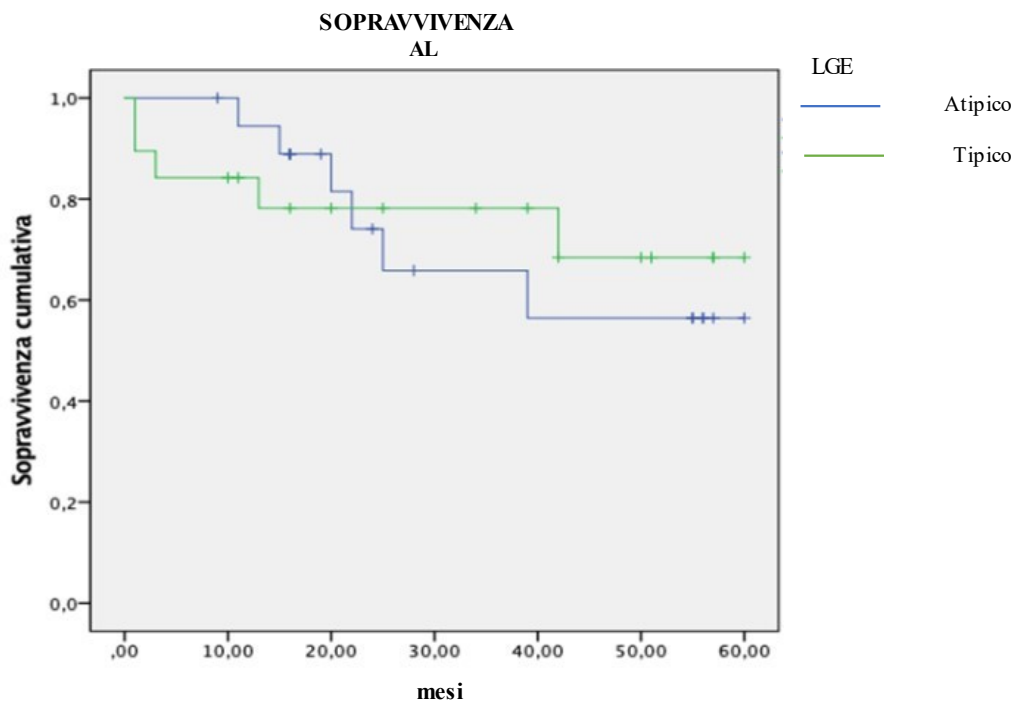


FIGURA 30: curva di sopravvivenza in termini di mortalità del pattern atipico nella popolazione AL.

Infine, sempre nelle due popolazioni ATTR e AL (rispettivamente *figura 31 e 32*), è stata valutata anche la curva di sopravvivenza in merito ai ricoveri per scompenso cardiaco con i seguenti esiti:

- ATTR: 1 evento negli atipici (N=9) e 5 nei tipici (N=48) con Log Rank (Mantel-Cox) di 0,033;
- AL: 5 eventi negli atipici (N=19) e 10 nei tipici (N=19) con Log Rank (Mantel-Cox) di 0,123.

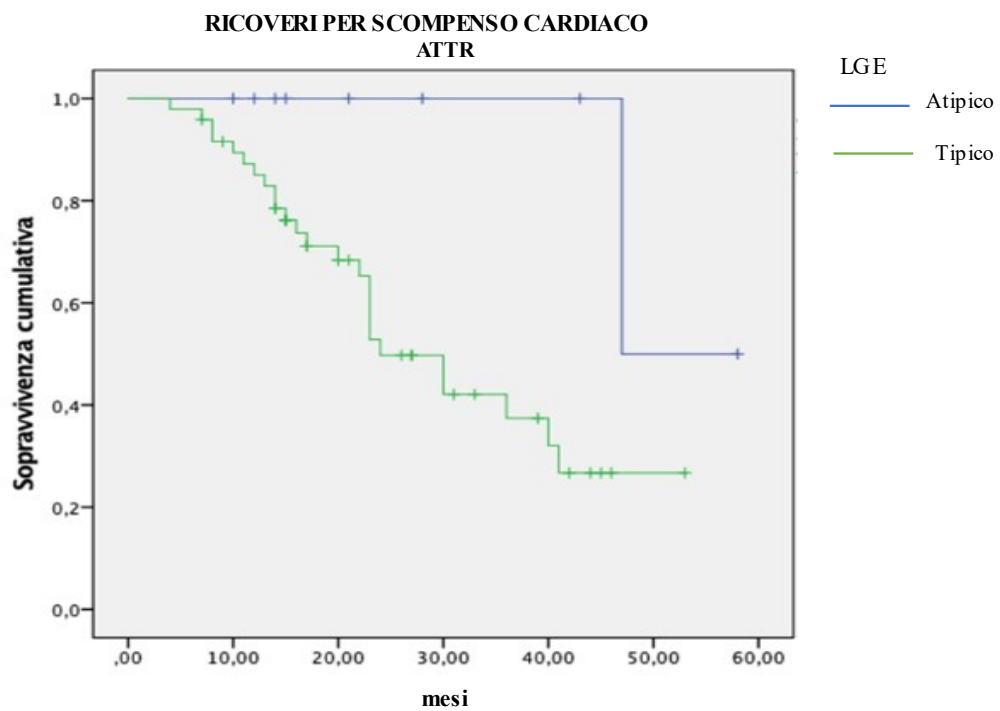


FIGURA 31: curva di sopravvivenza in termini di ricovero per scompenso cardiaco nel pattern atipico nella popolazione ATTR.

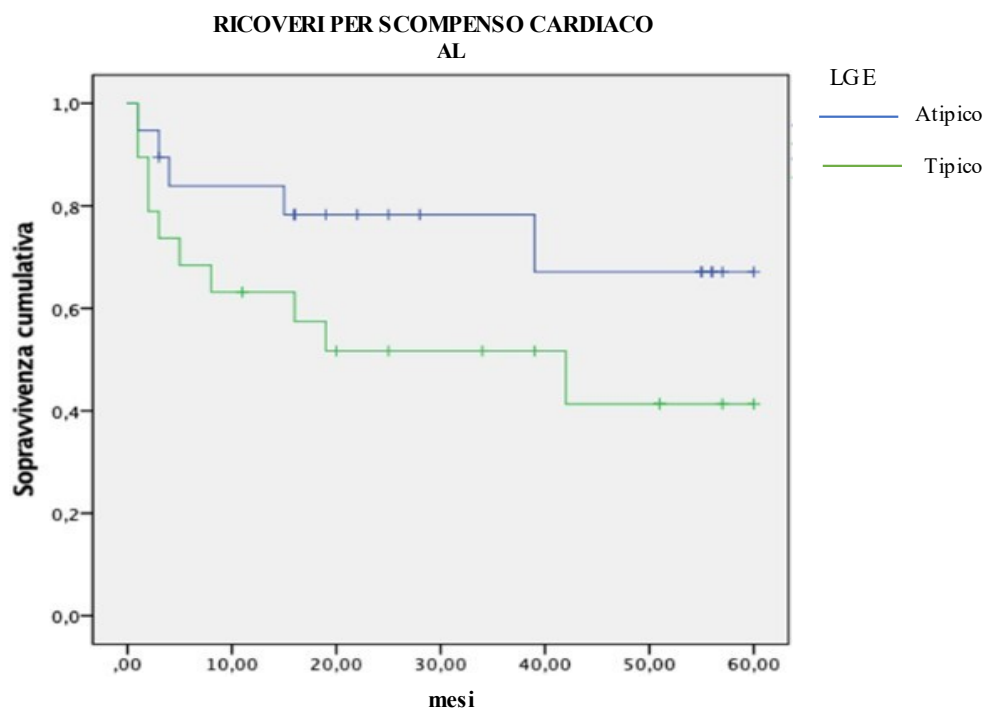


FIGURA 32: curva di sopravvivenza in termini di ricovero per scompenso cardiaco nel pattern atipico nella popolazione AL.

5.7 Correlati clinici e biumorali di pattern atipico

Ad una analisi dei dati appena esposti di tipo multivariato, sono stati ricavati i seguenti risultati riguardo due parametri:

- presenza di AL: è stato ottenuto un OR di 9.3, con un IC 95% 2.9-29.6 e un valore di $p < 0,001$;
- Hs-cTnI > 60 ng/L: è stato ottenuto un OR di 0.20, con un IC 95% 0.06-0.65 e un valore di $p = 0,007$.

5.8 Dati istologici

Del pool totale di pazienti (N=95), alcuni possiedono anche un dato bioptico (N=13). Di questi, 9 sono affetti da una forma di amiloidosi AL, 4 da una forma ATTR.

Dei pazienti con amiloidosi AL (N=9), 6 sono caratterizzati da un pattern tipico (67%) contro 3 caratterizzati da pattern atipico (33%) con un valore finale di $p=1,000$. Riguardo al diametro dei cardiomiociti, è stata riscontrato un valore mediano di 17,6 mm nei soggetti tipici (IQR 15,3-19,2 mm), mentre negli atipici era di 15,2 mm (IQR 14,8-18,3 mm) con un valore di $p=0,410$. Un dato significativo (*figura 33*) riguarda invece la percentuale di amiloide ($p=0,034$), la quale in presenza di LGE tipico ha un valore mediano di 18% (IQR 13-45%), mentre in presenza di LGE atipico di 3% (IQR 3-12%). Un ulteriore *marker* istologico che può essere presente nell'amiloidosi cardiaca è la fibrosi: in questo caso, i soggetti tipici che la presentano sono 2 (22%) con una percentuale mediana del marker di 0% (IQR 0-2,5%), mentre i soggetti atipici sono 2 (50%) con una percentuale mediana di 2,5% (IQR 0-5%); i valori di p sono rispettivamente $p=0,530$ e $p=0,500$. In termini di vacuolizzazione si è visto che a riportarla nel campione bioptico sono 5 tipici (56%) contro 3 atipici (33%) e un valore di $p=1,000$. Altro dato interessante anche se non significativo ($p=0,110$) è l'interessamento vascolare, il quale è presente in 5 pazienti tutti con LGE tipico (56%). Infine sono stati valutati edema e infiammazione, entrambi riscontrati in 1 solo paziente con pattern tipico (11%), con un valore di $p=1,000$ in tutti e due i casi.

A seguire i risultati appena esposti (*TABELLA III*).

	LGE atipico (pattern 0-3) N= 4	LGE tipico (pattern 1-2) N=9	P value
AL	3 (75)	6 (67)	1.00
Diametro cardiomiociti, mm	15.2 (14.8 - 18.3)	17.6 (15.3 - 19.2)	0.41
% di amiloide	3 (3 - 12)	18 (13 - 45)	0.034

Fibrosi	2 (50)	2 (22)	0.53
% di fibrosi	2.5 (0 – 5)	0 (0 – 2.5)	0.50
Vacuolizzazione	3 (75)	5 (56)	1.00
Interessamento vascolare	0 (0)	5 (56)	0.11
Edema	0 (0)	1 (11)	1.00
Infiammazione	0 (0)	1 (11)	1.00

TABELLA III: riassunto dei dati istologici riscontrati. Le variabili categoriche sono espresse in numero assoluto e percentuale. Le variabili continue sono espresse in mediana e range interquartile.

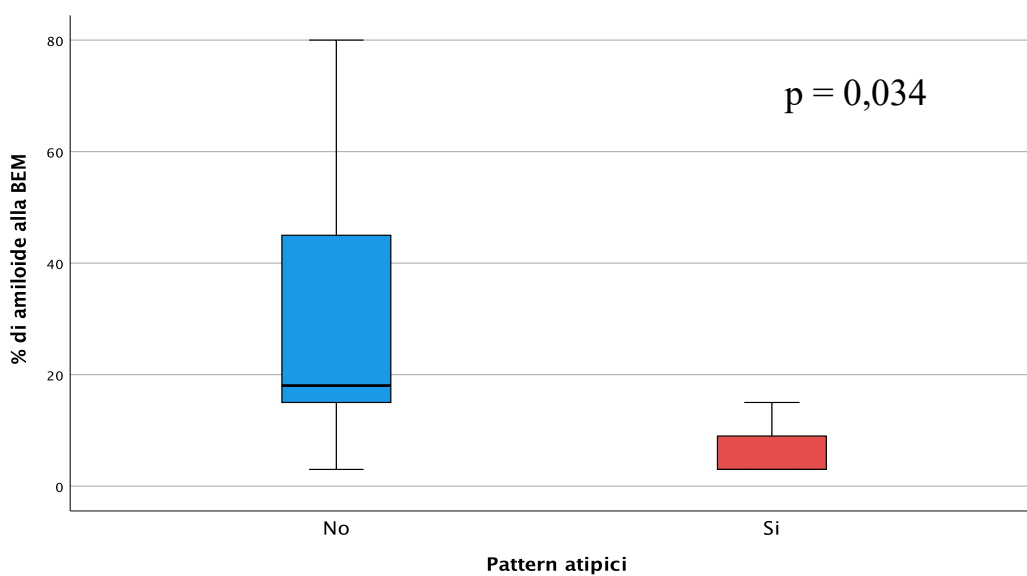


FIGURA 33: nell'immagine è raffigurata la diversa distribuzione della percentuale di amiloide tra pattern atipico e tipico.

6. DISCUSSIONE

L'amiloidosi cardiaca è una patologia relativamente poco frequente, ma caratterizzata da una prognosi infausta, soprattutto nella forma AL. Questo studio si focalizza su una metodica che viene utilizzata in fase di diagnosi, ossia la CMR, la quale funge da aiuto in maniera trasversale ad altri esami cardine come scintigrafia, test laboratoristici e biopsia. Abbiamo descritto i diversi pattern di LGE riscontrati nella nostra coorte e le loro correlazioni con dati clinico-strumentali, istologici e prognostici.

6.1 Dati demografici

Quanto al sesso dei pazienti, si è visto che la presenza di pattern atipico sembra essere maggiore nelle donne, il quale risulta in proporzione il doppio rispetto a quello tipico, al contrario degli uomini, dove il pattern tipico è preponderante. Anche se il dato tuttavia non è sufficientemente significativo, ciò è in linea con la maggior incidenza della forma ATTR negli uomini e con il fatto che nella forma ATTR prevalga il pattern tipico.

Va notato con interesse che, col passare degli anni, ed in particolar modo dal 2020 in poi, le richieste di esecuzione di risonanza magnetica cardiaca sono aumentate sensibilmente, soprattutto nei pazienti con la forma ATTR. Un altro fatto concomitante da non trascurare è che gli esami di risonanza sono stati eseguiti via via su pazienti che possedevano stadi più precoci di malattia soprattutto per la forma ATTR.

6.2 Dati clinico-anamnestici

a) Forma di amiloidosi

Come sappiamo, nonostante esistano diverse forme di AC, le principali sono rappresentate dalle forme ATTR (senile ed ereditaria) e AL. Nel presente studio è stata raggiunta una notevole significatività nel confronto tra AL e ATTR: il pattern atipico, infatti, è decisamente più preponderante nei pazienti affetti da amiloidosi AL. Ciò si pone in linea con i risultati riportati da Dungu et al. e Fontana et al., i quali avevano riscontrato nei loro studi la minor presenza di pattern subendocardico e transmurale (qui definiti assieme come pattern tipico) proprio nella forma AL.^{104,105} Nella forma ATTR, invece, in particolar modo nella ATTRwt, è presente in proporzione significativamente maggiore il pattern tipico. Il dato innovativo del nostro studio è che comunque il pattern LGE atipico può essere riscontrato anche nella forma ATTR e in particolare nei pazienti con stadio precoce di malattia (NAC 1).

b) Comorbidità

Le comorbidità nei pazienti con AC possono essere numerose, specialmente in quelli più anziani con ATTR, come ad esempio ipertensione o diabete, tuttavia nessuna di queste è stata correlata in modo significativo ad un pattern LGE specifico. Nemmeno la storia positiva all'anamnesi per scompenso cardiaco ha riportato differenze rilevanti, così come quella per interventi cardiocirurgici (nessun paziente ha subito interventi). Anche in termini di CAD o di storia di SCA, non sono state riscontrate differenze significative. Spostandoci su un parametro clinico come la classe NYHA, sembra esserci una maggior predilezione per il pattern atipico nella classe meno grave (1) e per il pattern tipico nelle altre (2 e 3), tuttavia le differenze non sono significative. Quest'ultimo dato è in parziale accordo con quanto riscontrato da Syed et al., dove la classe funzionale NYHA era più alta nel contesto di LGE diffuso/tipico.¹⁰⁶ Ciò è spiegabile dal fatto che, maggiore è il

coinvolgimento di parete, maggiore può essere il grado di disfunzionalità, con successivo peggioramento dei sintomi cardiaci.

Un dato interessante e significativo sorge dalla storia per FA, che risulta essere decisamente più presente nei pazienti con pattern subendocardico e transmurale. Ciò è in linea con gli studi, in quanto maggiore è il coinvolgimento cardiaco delle fibrille, maggiori sono gli effetti negativi di queste con peggioramento del pattern restrittivo, maggior dilatazione ed eventuale infiltrazione delle camere atriali con aumento della probabilità di insorgenza di FA.⁶⁷ Legato ai disturbi del ritmo, anche la presenza del PM/ICD è significativamente correlata al pattern tipico. Tutto ciò è comunque anche da correlare al fatto che il pattern LGE tipico è più frequente nei pazienti con ATTR-AC, che notoriamente presentano più spesso tali comorbidità (rispetto ad AL-AC).

6.3 Dati laboratoristici

Da un punto di vista di indagini di laboratorio, non sono stati raggiunti risultati significativi per quanto riguarda valori di emoglobina e di creatinina. Il dato interessante riguarda i valori di hs-cTnI che sono nettamente più elevati nei pazienti con pattern tipico. Tutto ciò è in linea con i risultati di Syed et al.: anche in questo caso un grado più alto di infiltrazione d'organo, come ad esempio nei pattern subendocardico e transmurale, porta a livelli di danno e stress tissutale e, dunque, livelli di troponine rilasciate in circolo più elevati.¹⁰⁶

6.4 Dati elettrocardiografici

Tra le variabili appartenenti all'ECG, sono emersi risultati variegati. Tra le variabili che non hanno raggiunto una significatività statistica vi sono la durata dell'onda P

e dell'intervallo PR, la presenza di device, BBS, EAS, BBD e presenza di bassi voltaggi periferici. È invece interessante notare come il ritmo sinusale sia presente in proporzione significativamente maggiore nei soggetti atipici; al contrario, la presenza effettiva di FA/flutter è presente in modo significativo soprattutto nei pazienti con pattern tipico. Tale fatto è di nuovo da correlare alla maggior frequenza di pattern tipico in ATTR-AC ma anche possibilmente all'entità di infiltrazione delle fibrille negli spazi interstiziali. Nei pazienti tipici, per il medesimo meccanismo fisiopatologico di infiltrazione, in questo caso ventricolare, è maggiore anche la durata del QRS. I risultati sono dunque in linea con le conoscenze e gli studi svolti finora.¹⁰⁵

6.5 Dati di CMR

Per quanto riguarda la presenza di LGE al ventricolo destro, si nota come questo sia prerogativa quasi in tutti i casi dei pazienti con pattern tipico, in linea con il maggior grado di coinvolgimento cardiaco. I risultati interessanti arrivano però da:

- spessori di parete ventricolare (SIV e parete posteriore): negli atipici questi sono minori;
- MAPSE laterale e settale: negli atipici i valori sono maggiori;
- Strain asse lungo: maggiormente negativo negli atipici;
- Volume atriale sinistro: minore negli atipici;
- FE atriali destra e sinistra: maggiori negli atipici;
- FE ventricolari destra e sinistra: maggiori negli atipici;
- LVEDi: minore negli atipici;
- LVmassi: minore negli atipici;
- T1SAXmed ed ECV: minori negli atipici.

La significatività non è stata raggiunta per la presenza di versamento, pleurico o pericardico, e di insufficienza mitralica significativa, e per le restanti variabili continue.

Da tutto ciò emerge il seguente quadro: il cuore dei soggetti con pattern LGE atipico ha minore pseudoipertrofia e una funzionalità maggiormente conservata. La fisiopatologia di tipo restrittivo è, dunque, meno evidente, con una attività d'organo conseguentemente migliore. I risultati ottenuti sono in accordo con quanto riscontrato anche da Fontana et al. e Baroni et al.^{105,107}

Allo stesso modo, come esposto in precedenza (vedi 6.2), similmente a quanto riscontrato da Dungo et al. e Fontana et al.^{104,105}, la distribuzione dei pattern LGE riporta delle sostanziali differenze tra forma ATTR e AL: nella prima infatti prevalgono in larga parte i pattern transmurale e subendocardico diffuso; nella seconda circa un quarto dei pazienti ha un LGE assente o atipico, alimentando l'ipotesi dell'effetto tossico delle catene leggere oltre che quella del loro accumulo.

Calandoci poi sulle differenze palesatesi negli anni in termini di pattern riscontrati, si nota come quelli atipici siano via via diminuiti, in quanto meno presenti nei pazienti con ATTR, i quali, come già osservato precedentemente (vedi 6.1), sono stati i protagonisti dell'aumento di richieste nell'esecuzione della CMR; nei pazienti con AL, invece, la percentuale di atipici è rimasta stabile e più alta, ma questi rappresentano la minoranza della popolazione dello studio. Infine, non va dimenticato di sottolineare che il pattern atipico si è visto appartenere a stadi più precoci di malattia nella forma ATTR (tutti i pazienti con pattern atipico erano in stadio NAC 1), mentre nella forma AL è stato riscontrato in stadi intermedi (Mayo Clinic 2) ma anche avanzati (Mayo Clinic 3). Ciò è comunque tendenzialmente in accordo con i risultati trovati da Syed et al., ovvero che i pattern tipici sono maggiormente associati a peggiori dati clinico-laboratoristici e viceversa.¹⁰⁶

6.6 Analisi di sopravvivenza

Tenendo a mente i ragionamenti fatti ed i risultati esposti fino ad ora, verrebbe spontaneo pensare che i pazienti con pattern atipico, ossia assente o non subendocardico/transmurale, il quale riflette un coinvolgimento cardiaco minore,

con migliori funzionalità e minor componente restrittiva, abbiano come diretta conseguenza una sopravvivenza complessiva, in termini di mortalità, maggiore. Tuttavia, come visto dalla curva di sopravvivenza in *figura 18*, ciò non si verifica nel nostro studio: la mortalità è simile tra pazienti con pattern tipico e atipico. Tuttavia i pazienti con pattern LGE atipico vengono meno frequentemente ricoverati per scompenso cardiaco: ciò è perfettamente spiegabile dalle migliori condizioni funzionali e strutturali a livello cardiaco degli atipici. Un risultato diverso è stato riscontrato da Baroni et al., nel cui studio la sopravvivenza in termini di mortalità si discostava tra gruppo con pattern tipico e gruppo con pattern atipico¹⁰⁷, e in Fontana et al, nel quale passando da pattern assente fino a subendocardico e diffuso si assisteva ad un aumento della mortalità.¹⁰⁵ In Maceira et al, invece, l'esito è stato simile, con il gruppo LGE+ che non aveva una differenza significativa in termini di sopravvivenza rispetto al gruppo LGE-.¹⁰⁸ I nostri dati di mortalità potrebbero essere influenzati dal fatto che è stata considerata la mortalità per tutte le cause e non solamente la mortalità cardiovascolare.

I discorsi cambiano, invece, se viene valutata la sopravvivenza in termini di mortalità e ricoveri per scompenso cardiaco dei pazienti con pattern atipico in presenza di forma ATTR e quella dei pazienti con pattern atipico in presenza di forma AL: nel primo caso si osserva come gli atipici non vadano incontro a morte e meno frequentemente incorrano in episodi di scompenso; nel secondo caso, al contrario, avvengono entrambi. Pertanto, nella forma ATTR-AC, i pattern LGE atipico appare presente solo in stadi più lievi di malattia e tendenzialmente associato a prognosi migliore in termini di mortalità e ricoveri per scompenso; invece, nella forma AL, il pattern LGE atipico è presente anche in stadi più avanzati di malattia, non si associa a un minor rischio di mortalità ma ad un trend verso un minor rischio di ricoveri per scompenso.

È possibile speculare che tali differenze di significato prognostico del pattern LGE atipico nelle due sottopopolazioni siano riconducibili al profilo fisiopatologico delle due forme. Nella forma ATTR, le cui manifestazioni sono più direttamente collegate al grado di infiltrazione amiloide, il pattern LGE atipico (con burden di infiltrazione minore e minor alterazioni morfo-funzionali a livello miocardico)

sembra assumere un ruolo prognostico favorevole. Nella forma AL, la componente citotossica delle fibrille ma anche dei precursori amiloidi risulta fondamentale nella patogenesi e nel fenotipo di malattia e questo potrebbe influenzare i dati di prognosi correlati al pattern LGE atipico.

6.7 Correlati clinici e biumorali di pattern atipico

Come rinvenuto già nelle analisi univariate, anche nella multivariata traspare il fatto che i pazienti con forma AL abbiano un rischio decisamente più alto di avere un pattern LGE atipico. Inoltre, avere alti livelli di hs-cTnI porta ad avere una probabilità più alta di non avere il pattern atipico.

6.8 Dati istologici

Nella correlazione tra pattern di RMC ed elementi anatomopatologici, il quadro che emerge è quello di una minor percentuale di infiltrazione amiloide nei pazienti con pattern LGE atipico. Il grado di coinvolgimento vascolare invece non è quello che ci si aspetterebbe, essendo minore in questo gruppo di pazienti, anche se il valore non ha raggiunto significatività sufficiente. Per tutte le altre variabili non si sono raggiunte differenze rilevanti. Anche Syed et al. nel loro studio sono giunti alle medesime conclusioni: i frammenti di tessuto cardiaco dei soggetti con pattern LGE globale transmurale o subendocardico sono caratterizzati da una maggior percentuale di amiloide.¹⁰⁶

6.9 Limiti dello studio

Vanno menzionati ora i limiti dello studio presentato in questa tesi, dei quali si deve necessariamente tenere conto nell'analisi ultima dei risultati. Essendo uno studio di tipo retrospettivo, i risultati dipendono fortemente dai dati utilizzati, in particolar modo dalla loro completezza: purtroppo, non è stato possibile avere a disposizione in modo esaustivo i dati relativi a tutte le variabili prese in considerazione per la totalità dei pazienti oggetto dello studio. Inoltre, non è stata effettuata un'ulteriore suddivisione nel gruppo degli ATTR tra ATTRwt e ATTRv, in quanto i secondi possiedono una numerosità insufficiente per essere valutati singolarmente. Le indagini come T1 e T2 mapping e calcolo dell'ECV erano disponibili solo in una minoranza di pazienti. Infine, abbiamo valutato la mortalità per tutte le cause, e non la mortalità cardiovascolare, e questo potrebbe aver influenzato le analisi di sopravvivenza.

7. CONCLUSIONI

In questa coorte di pazienti affetti da AC e sottoposti a RMC, un pattern LGE atipico è risultato un riscontro più comune nella forma AL, e appare complessivamente stabile come prevalenza negli anni, pur considerando le fluttuazioni correlate all'aumento recente di RMC eseguite nei pazienti con forma ATTR (che presentano più spesso un pattern LGE tipico). Nella forma ATTR, il pattern LGE atipico, laddove presente, sembra un reperto associato ad uno stadio lieve di malattia, al contrario delle forme AL in cui invece può essere riscontrato anche nelle forme più avanzate. Complessivamente, tuttavia, i pazienti con LGE atipico, a livello istologico, presentano burden di infiltrazione minori; è comunque importante ricordare come nella forma AL vi sia anche una rilevante componente citotossica delle fibrille ma anche dei precursori circolanti. Dal punto di vista prognostico, il pattern di LGE non appare associato a un diverso outcome di mortalità nella popolazione totale. Tuttavia, nelle due sottopopolazioni, si nota che il pattern di LGE atipico appare un fattore prognostico favorevole nelle ATTR, ma non nelle AL. Il pattern LGE atipico è associato ad un minor rischio di scompenso cardiaco e tale riscontro si mantiene tendenzialmente anche analizzando le due sottopopolazioni separatamente.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Muchtar E, Dispenzieri A, Magen H, Grogan M, Mauermann M, McPhail ED, Kurtin PJ, Leung N, Buadi FK, Dingli D, Kumar SK, Gertz MA. Systemic amyloidosis from A (AA) to T (ATTR): a review. *J Intern Med*. 2021 Mar;289(3):268-292. doi: 10.1111/joim.13169. Epub 2020 Sep 14. PMID: 32929754.
2. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, Merlini G, Saraiva MJM, Sekijima Y, Sipe JD, Westermark P. Amyloid nomenclature 2020: update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2020 Dec;27(4):217-222. doi: 10.1080/13506129.2020.1835263. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33100054.
3. Ma C, Hong F, Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. *Molecules*. 2022 Feb 11;27(4):1210. doi: 10.3390/molecules27041210. PMID: 35209007; PMCID: PMC8876037.
4. Araki K, Yagi N, Aoyama K, Choong CJ, Hayakawa H, Fujimura H, Nagai Y, Goto Y, Mochizuki H. Parkinson's disease is a type of amyloidosis featuring accumulation of amyloid fibrils of α -synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Sep 3;116(36):17963-17969. doi: 10.1073/pnas.1906124116. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31427526; PMCID: PMC6731630.
5. Viswanathan A, Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy in the elderly. *Ann Neurol*. 2011 Dec;70(6):871-80. doi: 10.1002/ana.22516. PMID: 22190361; PMCID: PMC4004372.
6. McGowan DP, van Roon-Mom W, Holloway H, Bates GP, Mangiarini L, Cooper GJ, Faull RL, Snell RG. Amyloid-like inclusions in Huntington's disease. *Neuroscience*. 2000;100(4):677-80. doi: 10.1016/s0306-4522(00)00391-2. PMID: 11036200.
7. Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet*. 2016 Jun 25;387(10038):2641-2654. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01274-X. Epub 2015 Dec 21. PMID: 26719234.

8. 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 May 22;2(10):1046-1053. doi: 10.1182/bloodadvances.2018016402. PMID: 29748430; PMCID: PMC5965052.
9. Rapezzi C, Quarta CC, Obici L, Perfetto F, Longhi S, Salvi F, Biagini E, Lorenzini M, Grigioni F, Leone O, Cappelli F, Palladini G, Rimessi P, Ferlini A, Arpesella G, Pinna AD, Merlini G, Perlini S. Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: an Italian perspective. *Eur Heart J*. 2013 Feb;34(7):520-8. doi: 10.1093/eurheartj/ehs123. Epub 2012 Jun 28. PMID: 22745357.
10. Gagliardi C, Perfetto F, Lorenzini M, Ferlini A, Salvi F, Milandri A, Quarta CC, Taborchi G, Bartolini S, Frusconi S, Martone R, Cinelli MM, Foffi S, Reggiani MLB, Fabbri G, Cataldo P, Cappelli F, Rapezzi C. Phenotypic profile of Ile68Leu transthyretin amyloidosis: an underdiagnosed cause of heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2018 Oct;20(10):1417-1425. doi: 10.1002/ejhf.1285. Epub 2018 Aug 2. PMID: 30070416.
11. Maurer MS, Hanna M, Grogan M, Dispenzieri A, Witteles R, Drachman B, Judge DP, Lenihan DJ, Gottlieb SS, Shah SJ, Steidley DE, Ventura H, Murali S, Silver MA, Jacoby D, Fedson S, Hummel SL, Kristen AV, Damy T, Planté-Bordeneuve V, Coelho T, Mundayat R, Suhr OB, Waddington Cruz M, Rapezzi C; THAOS Investigators. Genotype and Phenotype of Transthyretin Cardiac Amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey). *J Am Coll Cardiol*. 2016 Jul 12;68(2):161-72. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.596. PMID: 27386769; PMCID: PMC4940135.
12. Gilstrap LG, Dominici F, Wang Y, El-Sady MS, Singh A, Di Carli MF, Falk RH, Dorbala S. Epidemiology of Cardiac Amyloidosis-Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States. *Circ Heart Fail*. 2019 Jun;12(6):e005407. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005407. Epub 2019 Jun 7. PMID: 31170802; PMCID: PMC6557425.
13. Aimo A, Merlo M, Porcari A, Georgiopoulos G, Pagura L, Vergaro G, Sinagra G, Emdin M, Rapezzi C. Redefining the epidemiology of cardiac amyloidosis. A systematic review and meta-analysis of screening studies. *Eur J Heart Fail*.

2022 Dec;24(12):2342-2351. doi: 10.1002/ejhf.2532. Epub 2022 May 16. PMID: 35509173; PMCID: PMC10084346.

14. Ash S, Shorer E, Ramgobin D, Vo M, Gibbons J, Golamari R, Jain R, Jain R. Cardiac amyloidosis-A review of current literature for the practicing physician. *Clin Cardiol*. 2021 Mar;44(3):322-331. doi: 10.1002/clc.23572. Epub 2021 Feb 17. PMID: 33595871; PMCID: PMC7943900.
15. Falk RH, Alexander KM, Liao R, Dorbala S. AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis: A Review of Diagnosis and Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2016 Sep 20;68(12):1323-41. doi: 10.1016/j.jacc.2016.06.053. PMID: 27634125.
16. Patel KS, Hawkins PN. Cardiac amyloidosis: where are we today? *J Intern Med*. 2015 Aug;278(2):126-44. doi: 10.1111/joim.12383. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26077367.
17. Garcia-Pavia P, Rapezzi C, Adler Y, Arad M, Basso C, Brucato A, Burazor I, Caforio ALP, Damy T, Eriksson U, Fontana M, Gillmore JD, Gonzalez-Lopez E, Grogan M, Heymans S, Imazio M, Kindermann I, Kristen AV, Maurer MS, Merlini G, Pantazis A, Pankuweit S, Rigopoulos AG, Linhart A. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis. A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur J Heart Fail*. 2021 Apr;23(4):512-526. doi: 10.1002/ejhf.2140. Epub 2021 Apr 7. PMID: 33826207.
18. González-López E, Gallego-Delgado M, Guzzo-Merello G, de Haro-Del Moral FJ, Cobo-Marcos M, Robles C, Bornstein B, Salas C, Lara-Pezzi E, Alonso-Pulpon L, Garcia-Pavia P. Wild-type transthyretin amyloidosis as a cause of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*. 2015 Oct 7;36(38):2585-94. doi: 10.1093/eurheartj/ehv338. Epub 2015 Jul 28. PMID: 26224076.
19. Castaño A, Narotsky DL, Hamid N, Khaliq OK, Morgenstern R, DeLuca A, Rubin J, Chiuzan C, Nazif T, Vahl T, George I, Kodali S, Leon MB, Hahn R, Bokhari S, Maurer MS. Unveiling transthyretin cardiac amyloidosis and its predictors among elderly patients with severe aortic stenosis undergoing transcatheter aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2017 Oct 7;38(38):2879-2887. doi: 10.1093/eurheartj/ehx350. PMID: 29019612; PMCID: PMC5837725.

20. Maurer MS, Bokhari S, Damy T, Dorbala S, Drachman BM, Fontana M, Grogan M, Kristen AV, Lousada I, Nativi-Nicolau J, Cristina Quarta C, Rapezzi C, Ruberg FL, Witteles R, Merlini G. Expert Consensus Recommendations for the Suspicion and Diagnosis of Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Circ Heart Fail.* 2019 Sep;12(9):e006075. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006075. Epub 2019 Sep 4. PMID: 31480867; PMCID: PMC6736650.
21. Sekijima Y, Uchiyama S, Tojo K, Sano K, Shimizu Y, Imaeda T, Hoshii Y, Kato H, Ikeda S. High prevalence of wild-type transthyretin deposition in patients with idiopathic carpal tunnel syndrome: a common cause of carpal tunnel syndrome in the elderly. *Hum Pathol.* 2011 Nov;42(11):1785-91. doi: 10.1016/j.humpath.2011.03.004. PMID: 21733562.
22. Yanagisawa A, Ueda M, Sueyoshi T, Okada T, Fujimoto T, Ogi Y, Kitagawa K, Tasaki M, Misumi Y, Oshima T, Jono H, Obayashi K, Hirakawa K, Uchida H, Westermarck P, Ando Y, Mizuta H. Amyloid deposits derived from transthyretin in the ligamentum flavum as related to lumbar spinal canal stenosis. *Mod Pathol.* 2015 Feb;28(2):201-7. doi: 10.1038/modpathol.2014.102. Epub 2014 Sep 5. PMID: 25189643.
23. Maleszewski JJ. Cardiac amyloidosis: pathology, nomenclature, and typing. *Cardiovasc Pathol.* 2015 Nov-Dec;24(6):343-50. doi: 10.1016/j.carpath.2015.07.008. Epub 2015 Aug 1. PMID: 26361138.
24. Gillmore JD, Maurer MS, Falk RH, Merlini G, Damy T, Dispenzieri A, Wechalekar AD, Berk JL, Quarta CC, Grogan M, Lachmann HJ, Bokhari S, Castano A, Dorbala S, Johnson GB, Glaudemans AW, Rezk T, Fontana M, Palladini G, Milani P, Guidalotti PL, Flatman K, Lane T, Vonberg FW, Whelan CJ, Moon JC, Ruberg FL, Miller EJ, Hutt DF, Hazenberg BP, Rapezzi C, Hawkins PN. Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation.* 2016 Jun 14;133(24):2404-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612. Epub 2016 Apr 22. PMID: 27143678.
25. Palladini G, Russo P, Bosoni T, Verga L, Sarais G, Lavatelli F, Nuvolone M, Obici L, Casarini S, Donadei S, Albertini R, Righetti G, Marini M, Graziani MS, Melzi D'Eril GV, Moratti R, Merlini G. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with

- immunofixation of serum and urine. *Clin Chem*. 2009 Mar;55(3):499-504. doi: 10.1373/clinchem.2008.117143. Epub 2009 Jan 8. PMID: 19131635.
26. Sprangers B, Claes K, Evenepoel P, Kuypers D, Poesen K, Delforge M, Bossuyt V X, Meijers B. Comparison of 2 Serum-Free Light-Chain Assays in CKD Patients. *Kidney Int Rep*. 2020 Jan 30;5(5):627-631. doi: 10.1016/j.ekir.2020.01.019. PMID: 32405584; PMCID: PMC7210599.
27. Sayago I, Krsnik I, Gómez-Bueno M, García-Pavía P, Jaramillo N, Salas C, Mingo S, Oteo JF, Alonso-Pulpón L, Segovia J. Analysis of diagnostic and therapeutic strategies in advanced cardiac light-chain amyloidosis. *J Heart Lung Transplant*. 2016 Aug;35(8):995-1002. doi: 10.1016/j.healun.2016.03.004. Epub 2016 Mar 17. PMID: 27105686.
28. Driggin E, Maurer MS. The quintessential form of diastolic heart failure in older adults: Wild type transthyretin cardiac amyloidosis. *Clin Cardiol*. 2020 Feb;43(2):171-178. doi: 10.1002/clc.23301. Epub 2019 Dec 11. PMID: 31825134; PMCID: PMC7021652.
29. Milandri A, Farioli A, Gagliardi C, Longhi S, Salvi F, Curti S, Foffi S, Caponetti AG, Lorenzini M, Ferlini A, Rimessi P, Mattioli S, Violante FS, Rapezzi C. Carpal tunnel syndrome in cardiac amyloidosis: implications for early diagnosis and prognostic role across the spectrum of aetiologies. *Eur J Heart Fail*. 2020 Mar;22(3):507-515. doi: 10.1002/ejhf.1742. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31975495.
30. Geller HI, Singh A, Alexander KM, Mirto TM, Falk RH. Association Between Ruptured Distal Biceps Tendon and Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JAMA*. 2017 Sep 12;318(10):962-963. doi: 10.1001/jama.2017.9236. PMID: 28898370; PMCID: PMC5818850.
31. Galat A, Guellich A, Bodez D, Slama M, Dijos M, Zeitoun DM, Milleron O, Attias D, Dubois-Randé JL, Mohty D, Audureau E, Teiger E, Rosso J, Monin JL, Damy T. Aortic stenosis and transthyretin cardiac amyloidosis: the chicken or the egg? *Eur Heart J*. 2016 Dec 14;37(47):3525-3531. doi: 10.1093/eurheartj/ehw033. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26908951.

32. Papathanasiou M, Jakstaite AM, Oubari S, Siebermair J, Wakili R, Hoffmann J, Carpinteiro A, Hagenacker T, Thimm A, Rischpler C, Kessler L, Rassaf T, Luedike P. Clinical features and predictors of atrial fibrillation in patients with light-chain or transthyretin cardiac amyloidosis. *ESC Heart Fail.* 2022 Jun;9(3):1740-1748. doi: 10.1002/ehf2.13851. Epub 2022 Feb 17. PMID: 35178887; PMCID: PMC9065861.
33. Merlini G. AL amyloidosis: from molecular mechanisms to targeted therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2017 Dec 8;2017(1):1-12. doi: 10.1182/asheducation-2017.1.1. PMID: 29222231; PMCID: PMC6142527.
34. Merlini G, Palladini G. Light chain amyloidosis: the heart of the problem. *Haematologica.* 2013 Oct;98(10):1492-5. doi: 10.3324/haematol.2013.094482. PMID: 24091927; PMCID: PMC3789451.
35. Zhou P, Comenzo RL, Olshen AB, Bonvini E, Koenig S, Maslak PG, Fleisher M, Hoffman J, Jhanwar S, Young JW, Nimer SD, Boruchov AM. CD32B is highly expressed on clonal plasma cells from patients with systemic light-chain amyloidosis and provides a target for monoclonal antibody-based therapy. *Blood.* 2008 Apr 1;111(7):3403-6. doi: 10.1182/blood-2007-11-125526. Epub 2008 Jan 23. PMID: 18216299; PMCID: PMC2275009.
36. Castiglione V, Franzini M, Aimo A, Carecci A, Lombardi CM, Passino C, Rapezzi C, Emdin M, Vergaro G. Use of biomarkers to diagnose and manage cardiac amyloidosis. *Eur J Heart Fail.* 2021 Feb;23(2):217-230. doi: 10.1002/ejhf.2113. Epub 2021 Feb 21. PMID: 33527656.
37. Perfetto F, Zampieri M, Fumagalli C, Allinovi M, Cappelli F. Circulating biomarkers in diagnosis and management of cardiac amyloidosis: a review for internist. *Intern Emerg Med.* 2022 Jun;17(4):957-969. doi: 10.1007/s11739-022-02958-2. Epub 2022 Mar 24. PMID: 35325395; PMCID: PMC9135845.
38. Palladini G, Jaccard A, Milani P, Lavergne D, Foli A, Bender S, Lavatelli F, Bosoni T, Valentini V, Pirolini L, Ferraro G, Basset M, Russo F, Nuvolone M, Albertini R, Cogne M, Merlini G. Circulating free light chain measurement in the diagnosis, prognostic assessment and evaluation of response of AL amyloidosis: comparison of Freelite and N latex FLC assays. *Clin Chem Lab Med.* 2017 Oct 26;55(11):1734-1743. doi: 10.1515/cclm-2016-1024. PMID: 28343171.

39. Hutchison CA, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K, Harding S, Bradwell AR, Mead G. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC Nephrol*. 2008 Sep 22;9:11. doi: 10.1186/1471-2369-9-11. PMID: 18808676; PMCID: PMC2564915.
40. Chang IC, Dispenzieri A, Scott CG, Lin G, Jaffe AS, Klarich KW, Grogan M. Utility of the Serum Free Light Chain Assay in the Diagnosis of Light Chain Amyloidosis in Patients With Heart Failure. *Mayo Clin Proc*. 2019 Mar;94(3):447-454. doi: 10.1016/j.mayocp.2018.07.025. Epub 2019 Feb 2. PMID: 30718069.
41. Long TE, Indridason OS, Palsson R, Rognvaldsson S, Love TJ, Thorsteinsdottir S, Sverrisdottir IS, Vidarsson B, Onundarson PT, Agnarsson BA, Sigurdardottir M, Thorsteinsdottir I, Olafsson I, Thordardottir AR, Eythorsson E, Jonsson A, Gislason G, Olafsson A, Steingrimsdottir H, Hulcrantz M, Durie BGM, Harding S, Landgren O, Kristinsson SY. Defining new reference intervals for serum free light chains in individuals with chronic kidney disease: Results of the iStopMM study. *Blood Cancer J*. 2022 Sep 14;12(9):133. doi: 10.1038/s41408-022-00732-3. PMID: 36100605; PMCID: PMC9470548.
42. Rubinstein SM, Stockerl-Goldstein K. How to Screen for Monoclonal Gammopathy in Patients With a Suspected Amyloidosis. *JACC CardioOncol*. 2021 Oct 19;3(4):590-593. doi: 10.1016/j.jaccao.2021.07.001. PMID: 34729532; PMCID: PMC8543087.
43. Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, Lust JA, Kyle RA. Diagnostic performance of quantitative kappa and lambda free light chain assays in clinical practice. *Clin Chem*. 2005 May;51(5):878-81. doi: 10.1373/clinchem.2004.046870. Epub 2005 Mar 17. PMID: 15774572.
44. Brambilla F, Lavatelli F, Di Silvestre D, Valentini V, Rossi R, Palladini G, Obici L, Verga L, Mauri P, Merlini G. Reliable typing of systemic amyloidoses through proteomic analysis of subcutaneous adipose tissue. *Blood*. 2012 Feb 23;119(8):1844-7. doi: 10.1182/blood-2011-07-365510. Epub 2011 Sep 13. PMID: 21917755.

45. Palstrøm NB, Rojek AM, Møller HEH, Hansen CT, Matthiesen R, Rasmussen LM, Abildgaard N, Beck HC. Classification of Amyloidosis by Model-Assisted Mass Spectrometry-Based Proteomics. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 28;23(1):319. doi: 10.3390/ijms23010319. PMID: 35008745; PMCID: PMC8745254.
46. Palladini G, Campana C, Klersy C, Balduini A, Vadacca G, Perfetti V, Perlini S, Obici L, Ascari E, d'Eril GM, Moratti R, Merlini G. Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation.* 2003 May 20;107(19):2440-5. doi: 10.1161/01.CIR.0000068314.02595.B2. Epub 2003 Apr 28. PMID: 12719281.
47. Kimishima Y, Yoshihisa A, Kiko T, Yokokawa T, Miyata-Tatsumi M, Misaka T, Oikawa M, Kobayashi A, Takeishi Y. Utility of B-Type Natriuretic Peptide for Detecting Cardiac Involvement in Immunoglobulin Amyloidosis. *Int Heart J.* 2019 Sep 27;60(5):1106-1112. doi: 10.1536/ihj.19-043. Epub 2019 Sep 4. PMID: 31484874.
48. Palladini G, Foli A, Milani P, Russo P, Albertini R, Lavatelli F, Obici L, Perlini S, Moratti R, Merlini G. Best use of cardiac biomarkers in patients with AL amyloidosis and renal failure. *Am J Hematol.* 2012 May;87(5):465-71. doi: 10.1002/ajh.23141. Epub 2012 Mar 3. PMID: 22389105.
49. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, Burritt MF, Therneau TM, Greipp PR, Witzig TE, Lust JA, Rajkumar SV, Fonseca R, Zeldenrust SR, McGregor CG, Jaffe AS. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. *J Clin Oncol.* 2004 Sep 15;22(18):3751-7. doi: 10.1200/JCO.2004.03.029. PMID: 15365071.
50. Grogan M, Dispenzieri A, Gertz MA. Light-chain cardiac amyloidosis: strategies to promote early diagnosis and cardiac response. *Heart.* 2017 Jul;103(14):1065-1072. doi: 10.1136/heartjnl-2016-310704. Epub 2017 Apr 29. PMID: 28456755; PMCID: PMC5566095.
51. Damy T, Deux JF, Moutereau S, Guendouz S, Mohty D, Rappeneau S, Guellich A, Hittinger L, Loric S, Lefaucheur JP, Plante-Bordeneuve V. Role of natriuretic peptide to predict cardiac abnormalities in patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *Amyloid.* 2013 Dec;20(4):212-20. doi: 10.3109/13506129.2013.825240. Epub 2013 Aug 21. PMID: 23964755.

52. Nicol M, Baudet M, Brun S, Harel S, Royer B, Vignon M, Lairez O, Lavergne D, Jaccard A, Attias D, Macron L, Gayat E, Cohen-Solal A, Arnulf B, Logeart D. Diagnostic score of cardiac involvement in AL amyloidosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2020 May 1;21(5):542-548. doi: 10.1093/ehjci/jez180. PMID: 31292624.
53. Takashio S, Yamamuro M, Izumiya Y, Hirakawa K, Marume K, Yamamoto M, Ueda M, Yamashita T, Ishibashi-Ueda H, Yasuda S, Ogawa H, Ando Y, Anzai T, Tsujita K. Diagnostic utility of cardiac troponin T level in patients with cardiac amyloidosis. *ESC Heart Fail*. 2018 Feb;5(1):27-35. doi: 10.1002/ehf2.12203. Epub 2017 Sep 4. PMID: 28869340; PMCID: PMC5793964.
54. Hu K, Liu D, Salinger T, Oder D, Knop S, Ertl G, Weidemann F, Frantz S, Störk S, Nordbeck P. Value of cardiac biomarker measurement in the differential diagnosis of infiltrative cardiomyopathy patients with preserved left ventricular systolic function. *J Thorac Dis*. 2018 Aug;10(8):4966-4975. doi: 10.21037/jtd.2018.07.56. PMID: 30233871; PMCID: PMC6129925.
55. Biolo A, Ramamurthy S, Connors LH, O'Hara CJ, Meier-Ewert HK, Soo Hoo PT, Sawyer DB, Seldin DC, Sam F. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in cardiac amyloidosis: relationship to structural, functional myocardial changes and to light chain amyloid deposition. *Circ Heart Fail*. 2008 Nov;1(4):249-57. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.788687. Epub 2008 Oct 14. Erratum in: *Circ Heart Fail*. 2009 May;2(3):e3. Seldin, David S [corrected to Seldin, David C]. PMID: 19808299; PMCID: PMC2774449.
56. Abraham J, Desport E, Rigaud C, Marin B, Bender S, Lacombe C, Moreau S, Yagoubi F, Bordessoule D, Lavergne D, Bridoux F, Jaccard A. Hepatocyte growth factor measurement in AL amyloidosis. *Amyloid*. 2015;22(2):112-6. doi: 10.3109/13506129.2015.1014548. Epub 2015 Jun 8. PMID: 26053104.
57. Swiger KJ, Friedman EA, Brittain EL, Tomasek KA, Huang S, Su YR, Sawyer DB, Lenihan DJ. Plasma hepatocyte growth factor is a novel marker of AL cardiac amyloidosis. *Amyloid*. 2016 Dec;23(4):242-248. doi: 10.1080/13506129.2016.1242480. Epub 2016 Nov 4. PMID: 27809600.

58. Zhang KW, Miao J, Mitchell JD, Alvarez-Cardona J, Tomasek K, Su YR, Gordon M, Cornell RF, Lenihan DJ. Plasma Hepatocyte Growth Factor for Diagnosis and Prognosis in Light Chain and Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *JACC CardioOncol.* 2020 Mar;2(1):56-66. doi: 10.1016/j.jacc.2020.01.006. Epub 2020 Mar 17. PMID: 33283202; PMCID: PMC7717591.
59. Buxbaum J, Anan I, Suhr O. Serum transthyretin levels in Swedish TTR V30M carriers. *Amyloid.* 2010 Jun;17(2):83-5. doi: 10.3109/13506129.2010.483118. PMID: 20462367.
60. Hornstrup LS, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A. Genetic stabilization of transthyretin, cerebrovascular disease, and life expectancy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013 Jun;33(6):1441-7. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301273. Epub 2013 Apr 11. PMID: 23580146.
61. Buxbaum J, Koziol J, Connors LH. Serum transthyretin levels in senile systemic amyloidosis: effects of age, gender and ethnicity. *Amyloid.* 2008 Dec;15(4):255-61. doi: 10.1080/13506120802525285. PMID: 19065297; PMCID: PMC5612502.
62. 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 CardioOncol.* 2021 Oct 19;3(4):580-586. doi: 10.1016/j.jacc.2021.08.007. PMID: 34729530; PMCID: PMC8543137.
63. Judge DP, Heitner SB, Falk RH, Maurer MS, Shah SJ, Witteles RM, Grogan M, Selby VN, Jacoby D, Hanna M, Nativi-Nicolau J, Patel J, Rao S, Sinha U, Turtle CW, Fox JC. Transthyretin Stabilization by AG10 in Symptomatic Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Jul 23;74(3):285-295. doi: 10.1016/j.jacc.2019.03.012. Epub 2019 Mar 15. PMID: 30885685.
64. Yilmaz A, Bauersachs J, Bengel F, Büchel R, Kindermann I, Klingel K, Knebel F, Meder B, Morbach C, Nagel E, Schulze-Bahr E, Aus dem Siepen F, Frey N. Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: position statement of the German Cardiac Society (DGK). *Clin Res Cardiol.* 2021 Apr;110(4):479-506. doi: 10.1007/s00392-020-01799-3. Epub 2021 Jan 18. PMID: 33459839; PMCID: PMC8055575.

65. Porcari A, Fontana M, Gillmore JD. Transthyretin cardiac amyloidosis. *Cardiovasc Res.* 2023 Feb 3;118(18):3517-3535. doi: 10.1093/cvr/cvac119. PMID: 35929637; PMCID: PMC9897687.
66. Ng PLF, Lim YC, Evangelista LKM, Wong RCC, Chai P, Sia CH, Loi HY, Yeo TC, Lin W. Utility and pitfalls of the electrocardiogram in the evaluation of cardiac amyloidosis. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2022 Jul;27(4):e12967. doi: 10.1111/anec.12967. Epub 2022 May 14. PMID: 35567784; PMCID: PMC9296797.
67. Martini N, Sinigiani G, De Michieli L, Mussinelli R, Perazzolo Marra M, Iliceto S, Zorzi A, Perlini S, Corrado D, Cipriani A. Electrocardiographic features and rhythm disorders in cardiac amyloidosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2023 Feb 24:S1050-1738(23)00024-5. doi: 10.1016/j.tcm.2023.02.006. Epub ahead of print. PMID: 36841466.
68. Fontana M, Ćorović A, Scully P, Moon JC. Myocardial Amyloidosis: The Exemplar Interstitial Disease. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2019 Nov;12(11 Pt 2):2345-2356. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.06.023. Epub 2019 Aug 14. PMID: 31422120.
69. Rapezzi C, Merlini G, Quarta CC, Riva L, Longhi S, Leone O, Salvi F, Ciliberti P, Pastorelli F, Biagini E, Coccolo F, Cooke RM, Bacchi-Reggiani L, Sangiorgi D, Ferlini A, Cavo M, Zamagni E, Fonte ML, Palladini G, Salinaro F, Musca F, Obici L, Branzi A, Perlini S. Systemic cardiac amyloidoses: disease profiles and clinical courses of the 3 main types. *Circulation.* 2009 Sep 29;120(13):1203-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.843334. Epub 2009 Sep 14. PMID: 19752327.
70. Martinez-Naharro A, Gonzalez-Lopez E, Corovic A, Mirelis JG, Baksi AJ, Moon JC, Garcia-Pavia P, Gillmore JD, Hawkins PN, Fontana M. High Prevalence of Intracardiac Thrombi in Cardiac Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Apr 9;73(13):1733-1734. doi: 10.1016/j.jacc.2019.01.035. PMID: 30947929.
71. Falk RH, Dubrey SW. Amyloid heart disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010 Jan-Feb;52(4):347-61. doi: 10.1016/j.pcad.2009.11.007. Erratum in: *Prog Cardiovasc Dis.* 2010 Mar-Apr;52(5):445-7. PMID: 20109604.

72. Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, Popović ZB, Hanna M, Plana JC, Marwick TH, Thomas JD. 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 Oct;98(19):1442-8. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302353. Epub 2012 Aug 3. PMID: 22865865.
73. Longhi S, Lorenzini M, Gagliardi C, Milandri A, Marzocchi A, Marrozzini C, Saia F, Ortolani P, Biagini E, Guidalotti PL, Leone O, Rapezzi C. Coexistence of Degenerative Aortic Stenosis and Wild-Type Transthyretin-Related Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2016 Mar;9(3):325-7. doi: 10.1016/j.jcmg.2015.04.012. Epub 2015 Jul 15. PMID: 26189123.
74. Boldrini M, Cappelli F, Chacko L, Restrepo-Cordoba MA, Lopez-Sainz A, Giannoni A, Aimo A, Baggiano A, Martinez-Naharro A, Whelan C, Quarta C, Passino C, Castiglione V, Chubuchnyi V, Spini V, Taddei C, Vergaro G, Petrie A, Ruiz-Guerrero L, Moñivas V, Mingo-Santos S, Mirelis JG, Dominguez F, Gonzalez-Lopez E, Perlini S, Pontone G, Gillmore J, Hawkins PN, Garcia-Pavia P, Emdin M, Fontana M. Multiparametric Echocardiography Scores for the Diagnosis of Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020 Apr;13(4):909-920. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.10.011. Epub 2019 Dec 18. PMID: 31864973.
75. Almeida PC, Lopes V, Ferreira LA, Moreira N, Marto CM, Gonçalves L, Donato P. Role of Cardiac Magnetic Resonance in the Diagnosis of Infiltrative, Hypertrophic, and Arrhythmogenic Cardiomyopathies. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2022 Mar 8;14(1):7. doi: 10.31083/j.fbs1401007. PMID: 35320918.
76. Dungu JN, Valencia O, Pinney JH, Gibbs SD, Rowczenio D, Gilbertson JA, Lachmann HJ, Wechalekar A, Gillmore JD, Whelan CJ, Hawkins PN, Anderson LJ. CMR-based differentiation of AL and ATTR cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014 Feb;7(2):133-42. doi: 10.1016/j.jcmg.2013.08.015. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24412186.
77. Fontana M, Pica S, Reant P, Abdel-Gadir A, Treibel TA, Banypersad SM, Maestrini V, Barcella W, Rosmini S, Bulluck H, Sayed RH, Patel K, Mamhood S, Bucciarelli-Ducci C, Whelan CJ, Herrey AS, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Manisty CH, Schelbert EB, Kellman P, Gillmore JD, Hawkins PN, Moon JC. Prognostic Value of Late Gadolinium Enhancement Cardiovascular Magnetic Resonance in Cardiac Amyloidosis. *Circulation*. 2015 Oct 20;132(16):1570-9.

doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016567. Epub 2015 Sep 11. PMID: 26362631; PMCID: PMC4606985.

78. Baggiano A, Boldrini M, Martinez-Naharro A, Kotecha T, Petrie A, Rezk T, Gritti M, Quarta C, Knight DS, Wechalekar AD, Lachmann HJ, Perlini S, Pontone G, Moon JC, Kellman P, Gillmore JD, Hawkins PN, Fontana M. Noncontrast Magnetic Resonance for the Diagnosis of Cardiac Amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020 Jan;13(1 Pt 1):69-80. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.03.026. Epub 2019 Jun 12. PMID: 31202744.
79. Banypersad SM, Fontana M, Maestrini V, Sado DM, Captur G, Petrie A, Piechnik SK, Whelan CJ, Herrey AS, Gillmore JD, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Hawkins PN, Moon JC. T1 mapping and survival in systemic light-chain amyloidosis. *Eur Heart J*. 2015 Jan 21;36(4):244-51. doi: 10.1093/eurheartj/ehu444. Epub 2014 Nov 16. PMID: 25411195; PMCID: PMC4301598.
80. Kotecha T, Martinez-Naharro A, Treibel TA, Francis R, Nordin S, Abdel-Gadir A, Knight DS, Zumbo G, Rosmini S, Maestrini V, Bulluck H, Rakhit RD, Wechalekar AD, Gilbertson J, Sheppard MN, Kellman P, Gillmore JD, Moon JC, Hawkins PN, Fontana M. Myocardial Edema and Prognosis in Amyloidosis. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Jun 26;71(25):2919-2931. doi: 10.1016/j.jacc.2018.03.536. PMID: 29929616.
81. Fontana M, Banypersad SM, Treibel TA, Abdel-Gadir A, Maestrini V, Lane T, Gilbertson JA, Hutt DF, Lachmann HJ, Whelan CJ, Wechalekar AD, Herrey AS, Gillmore JD, Hawkins PN, Moon JC. Differential Myocyte Responses in Patients with Cardiac Transthyretin Amyloidosis and Light-Chain Amyloidosis: A Cardiac MR Imaging Study. *Radiology*. 2015 Nov;277(2):388-97. doi: 10.1148/radiol.2015141744. Epub 2015 May 21. PMID: 25997029.
82. Dorbala S, Cuddy S, Falk RH. How to Image Cardiac Amyloidosis: A Practical Approach. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2020 Jun;13(6):1368-1383. doi: 10.1016/j.jcmg.2019.07.015. Epub 2019 Oct 11. PMID: 31607664; PMCID: PMC7148180.
83. Khor YM, Cuddy S, Falk RH, Dorbala S. Multimodality Imaging in the Evaluation and Management of Cardiac Amyloidosis. *Semin Nucl Med*. 2020

Jul;50(4):295-310. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2020.01.001. Epub 2020 Feb 9. PMID: 32540027; PMCID: PMC9440475.

84. Castano A, Haq M, Narotsky DL, Goldsmith J, Weinberg RL, Morgenstern R, Pozniakoff T, Ruberg FL, Miller EJ, Berk JL, Dispenzieri A, Grogan M, Johnson G, Bokhari S, Maurer MS. Multicenter Study of Planar Technetium 99m Pyrophosphate Cardiac Imaging: Predicting Survival for Patients With ATTR Cardiac Amyloidosis. *JAMA Cardiol.* 2016 Nov 1;1(8):880-889. doi: 10.1001/jamacardio.2016.2839. PMID: 27557400.
85. Quarta CC, Zheng J, Hutt D, Grigore SF, Manwani R, Sachchithanatham S, Mahmood SA, Whelan CJ, Fontana M, Martinez-Naharro A, Chacko L, Lachmann HJ, Gillmore JD, Rapezzi C, Hawkins PN, Wechalekar AD. 99mTc-DPD scintigraphy in immunoglobulin light chain (AL) cardiac amyloidosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2021 Oct 19;22(11):1304-1311. doi: 10.1093/ehjci/jeab095. PMID: 34254119; PMCID: PMC8527328.
86. Hanna M, Ruberg FL, Maurer MS, Dispenzieri A, Dorbala S, Falk RH, Hoffman J, Jaber W, Soman P, Witteles RM, Grogan M. Cardiac Scintigraphy With Technetium-99m-Labeled Bone-Seeking Tracers for Suspected Amyloidosis: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Jun 9;75(22):2851-2862. doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.022. PMID: 32498813.
87. Antoni G, Lubberink M, Estrada S, Axelsson J, Carlson K, Lindsjö L, Kero T, Långström B, Granstam SO, Rosengren S, Vedin O, Wassberg C, Wikström G, Westermark P, Sörensen J. In vivo visualization of amyloid deposits in the heart with 11C-PIB and PET. *J Nucl Med.* 2013 Feb;54(2):213-20. doi: 10.2967/jnumed.111.102053. Epub 2012 Dec 13. PMID: 23238792.
88. Park MA, Padera RF, Belanger A, Dubey S, Hwang DH, Veeranna V, Falk RH, Di Carli MF, Dorbala S. 18F-Florbetapir Binds Specifically to Myocardial Light Chain and Transthyretin Amyloid Deposits: Autoradiography Study. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2015 Aug;8(8):10.1161/CIRCIMAGING.114.002954 e002954. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.114.002954. PMID: 26259579; PMCID: PMC4535193.
89. Dorbala S, Vangala D, Semer J, Strader C, Bruyere JR Jr, Di Carli MF, Moore SC, Falk RH. Imaging cardiac amyloidosis: a pilot study using ¹⁸F-florbetapir positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014

Sep;41(9):1652-62. doi: 10.1007/s00259-014-2787-6. Epub 2014 May 20. PMID: 24841414.

90. Law WP, Wang WY, Moore PT, Mollee PN, Ng AC. Cardiac Amyloid Imaging with 18F-Florbetaben PET: A Pilot Study. *J Nucl Med*. 2016 Nov;57(11):1733-1739. doi: 10.2967/jnumed.115.169870. Epub 2016 Jun 15. PMID: 27307344.
91. 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 Dec 5;9:1081098. doi: 10.3389/fcvm.2022.1081098. PMID: 36545023; PMCID: PMC9760761.
92. Siddiqi OK, Ruberg FL. Cardiac amyloidosis: An update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Trends Cardiovasc Med*. 2018 Jan;28(1):10-21. doi: 10.1016/j.tcm.2017.07.004. Epub 2017 Jul 13. PMID: 28739313; PMCID: PMC5741539.
93. Dispenzieri A, Kyle RA, Gertz MA, Therneau TM, Miller WL, Chandrasekaran K, McConnell JP, Burritt MF, Jaffe AS. Survival in patients with primary systemic amyloidosis and raised serum cardiac troponins. *Lancet*. 2003 May 24;361(9371):1787-9. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13396-X. PMID: 12781539.
94. Lilleness B, Ruberg FL, Mussinelli R, Doros G, Sanchorawala V. Development and validation of a survival staging system incorporating BNP in patients with light chain amyloidosis. *Blood*. 2019 Jan 17;133(3):215-223. doi: 10.1182/blood-2018-06-858951. Epub 2018 Oct 17. PMID: 30333122.
95. Wechalekar AD, Schonland SO, Kastritis E, Gillmore JD, Dimopoulos MA, Lane T, Foli A, Foard D, Milani P, Rannigan L, Hegenbart U, Hawkins PN, Merlini G, Palladini G. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. *Blood*. 2013 Apr 25;121(17):3420-7. doi: 10.1182/blood-2012-12-473066. Epub 2013 Mar 11. PMID: 23479568.
96. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Colby C, Laumann K, Zeldenrust SR, Leung N, Dingli D, Greipp PR, Lust JA, Russell SJ, Kyle RA, Rajkumar SV, Gertz MA. Revised prognostic staging system for light chain

amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J Clin Oncol.* 2012 Mar 20;30(9):989-95. doi: 10.1200/JCO.2011.38.5724. Epub 2012 Feb 13. PMID: 22331953; PMCID: PMC3675680.

97. Grogan M, Scott CG, Kyle RA, Zeldenrust SR, Gertz MA, Lin G, Klarich KW, Miller WL, Maleszewski JJ, Dispenzieri A. Natural History of Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis and Risk Stratification Using a Novel Staging System. *J Am Coll Cardiol.* 2016 Sep 6;68(10):1014-20. doi: 10.1016/j.jacc.2016.06.033. Erratum in: *J Am Coll Cardiol.* 2017 Jun 13;69(23):2882. PMID: 27585505.
98. Gillmore JD, Damy T, Fontana M, Hutchinson M, Lachmann HJ, Martinez-Naharro A, Quarta CC, Rezk T, Whelan CJ, Gonzalez-Lopez E, Lane T, Gilbertson JA, Rowczenio D, Petrie A, Hawkins PN. A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J.* 2018 Aug 7;39(30):2799-2806. doi: 10.1093/eurheartj/ehx589. PMID: 29048471.
99. Conceição I, Coelho T, Rapezzi C, Parman Y, Obici L, Galán L, Rousseau A. Assessment of patients with hereditary transthyretin amyloidosis - understanding the impact of management and disease progression. *Amyloid.* 2019 Sep;26(3):103-111. doi: 10.1080/13506129.2019.1627312. Epub 2019 Jul 24. PMID: 31339362.
100. Adam RD, Coriu D, Jercan A, Bădeliță S, Popescu BA, Damy T, Jurcuț R. Progress and challenges in the treatment of cardiac amyloidosis: a review of the literature. *ESC Heart Fail.* 2021 Aug;8(4):2380-2396. doi: 10.1002/ehf2.13443. Epub 2021 Jun 5. PMID: 34089308; PMCID: PMC8318516.
101. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, Blom N, Borggrefe M, Camm J, Elliott PM, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck KH, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekvål TM, Spaulding C, Van Veldhuisen DJ; ESC Scientific Document Group. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: The Task Force for the Management of Patients with Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J.* 2015 Nov 1;36(41):2793-2867. doi: 10.1093/eurheartj/ehv316. Epub 2015 Aug 29. PMID: 26320108.

102. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, Flachskampf FA, Foster E, Goldstein SA, Kuznetsova T, Lancellotti P, Muraru D, Picard MH, Rietzschel ER, Rudski L, Spencer KT, Tsang W, Voigt JU. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015 Jan;28(1):1-39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003. PMID: 25559473.
103. Zoghbi WA, Adams D, Bonow RO, Enriquez-Sarano M, Foster E, Grayburn PA, Hahn RT, Han Y, Hung J, Lang RM, Little SH, Shah DJ, Shernan S, Thavendiranathan P, Thomas JD, Weissman NJ. Recommendations for Noninvasive Evaluation of Native Valvular Regurgitation: A Report from the American Society of Echocardiography Developed in Collaboration with the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance. *J Am Soc Echocardiogr*. 2017 Apr;30(4):303-371. doi: 10.1016/j.echo.2017.01.007. Epub 2017 Mar 14. PMID: 28314623.
104. Dzung J, Whelan CJ, Gibbs SD, Pinney JH, Banypersad SM, Venner CP, Lachmann HJ, Wechalekar A, Gillmore JD, Hawkins PN, Anderson L. Patterns of late gadolinium enhancement in 94 patients with AL or transthyretin cardiac amyloidosis. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2012 Feb 1;14(Suppl 1):O87. doi: 10.1186/1532-429X-14-S1-O87. PMCID: PMC3305187.
105. Fontana M, Pica S, Reant P, Abdel-Gadir A, Treibel TA, Banypersad SM, Maestrini V, Barcella W, Rosmini S, Bulluck H, Sayed RH, Patel K, Mamhood S, Bucciarelli-Ducci C, Whelan CJ, Herrey AS, Lachmann HJ, Wechalekar AD, Manisty CH, Schelbert EB, Kellman P, Gillmore JD, Hawkins PN, Moon JC. Prognostic Value of Late Gadolinium Enhancement Cardiovascular Magnetic Resonance in Cardiac Amyloidosis. *Circulation*. 2015 Oct 20;132(16):1570-9. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016567. Epub 2015 Sep 11. PMID: 26362631; PMCID: PMC4606985.
106. Syed IS, Glockner JF, Feng D, Araoz PA, Martinez MW, Edwards WD, Gertz MA, Dispenzieri A, Oh JK, Bellavia D, Tajik AJ, Grogan M. Role of cardiac magnetic resonance imaging in the detection of cardiac amyloidosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010 Feb;3(2):155-64. doi: 10.1016/j.jcmg.2009.09.023. PMID: 20159642.

107. Baroni M, Nava S, Quattrocchi G, Milazzo A, Giannattasio C, Roghi A, Pedrotti P. Role of cardiovascular magnetic resonance in suspected cardiac amyloidosis: late gadolinium enhancement pattern as mortality predictor. *Neth Heart J*. 2018 Jan;26(1):34-40. doi: 10.1007/s12471-017-1046-4. PMID: 29058206; PMCID: PMC5758446.

108. Maceira AM, Prasad SK, Hawkins PN, Roughton M, Pennell DJ. Cardiovascular magnetic resonance and prognosis in cardiac amyloidosis. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2008 Nov 25;10(1):54. doi: 10.1186/1532-429X-10-54. PMID: 19032744; PMCID: PMC2605441.