

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche



Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico

in Medicina e Chirurgia

TESI DI LAUREA

**Quantificazione del “granular sparkling” all’ecocardiografia
in pazienti affetti da amiloidosi cardiaca da transtiretina con
l’utilizzo di caratteristiche morfologiche ultrasoniche e
matematiche.**

RELATORE

Chiar.mo Prof. Italo Porto

CANDIDATO

Niccolò Biggi

CORRELATORE

Chiar.mo Prof. Marco Canepa

Anno Accademico 2022-202

Sommario

2.1.	Cos'è l'amiloidosi	5
2.2.	Storia della scoperta dell'infiltrazione tissutale	6
2.3.	Fisiopatologia della malattia da accumulo di sostanza amiloide	7
2.4.	Amiloidosi sistemica	8
3.	Amiloidosi cardiaca.....	9
3.1.	Epidemiologia	9
3.2.	Tipologie.....	10
3.2.1.	AL-AC	10
3.2.2.	ATTRv-AC.....	12
3.2.3.	ATTRwt-AC.....	14
3.3	Manifestazioni cliniche	15
3.4	. Indagini strumentali	16
3.4.1	ECG	17
3.4.2	Ecocardiografia.....	19
3.4.3	PET.....	23
3.4.4	RM cardiaca.....	23
3.4.5	Scintigrafia cardiaca	25
3.5	Biopsia tissutale	26
3.6	Test genetici	27
3.7	Diagnosi.....	27
3.8	Prognosi	30
3.9	Tattamento	31
4.	Lo studio	38
4.1.	Obbiettivi	38

4.2. Dati.....	39
4.3. Strumenti	41
4.3.1. Granulometria.....	41
4.3.2. Radiomica.....	43
4.4. Analisi.....	45
4.5. Risultati.....	47
5. Conclusioni.....	51
6. Limiti dello studio ed obiettivi futuri.....	52
Bibliografia	53
Ringraziamenti	58

1. Abstract

Introduzione e scopo: In pazienti affetti da amiloidosi cardiaca correlata alla transtiretina il “granular sparkling” è una caratteristica ecocardiografica ben nota. Tuttavia, non esiste una tecnica oggettiva per descriverla e quantificarla, rimane quindi essa una caratteristica di imaging qualitativa, sfuggente e in definitiva inaffidabile. Il primo obiettivo di questo studio è quantificare la struttura del “granular sparkling” nel miocardio in pazienti con amiloidosi cardiaca correlata alla transtiretina rispetto ai controlli sani. Il secondo obiettivo è valutare le differenze quantitative o geometriche del tessuto miocardico all'interno della popolazione di pazienti ed analizzare la loro associazione con le caratteristiche cliniche e la prognosi. Lo scopo dello studio è quello di generare un parametro quantitativo di una valutazione che, per ora, è unicamente qualitativa.

Metodi: sono state confrontate le immagini ecocardiografiche di 62 pazienti affetti e di 66 controlli sani e sono state analizzate con Label Studio, uno strumento di etichettatura dei dati open source, per identificare una regione di interesse (ROI) all'interno del setto interventricolare. Questa ROI sarà estratta e la sua texture sarà analizzata utilizzando strumenti di radiomica e morfologia matematica.

Risultati: L'analisi della granularità del miocardio attraverso variabili di radiomica e di morfologia matematica permette di raggiungere un'accuratezza diagnostica del 67% in PLAX e del 71% in 4CH in modo indipendente dalle dimensioni del volume campionato. All'interno del gruppo dei pazienti è stato dimostrato che granuli più fini potrebbero correlare con uno stato di malattia più avanzato, $r = -0.30$ $p = 0.0867$ relativa al NTpro-BNP, $r = -0.22$ $p = 0.127$ per la classe NYHA, $r = -0.16$ $p = 0.2462$ per i mg/die di furosemide, $r = -0.07$ $p = 0.6143$ per la creatinina e $r = 0.14$ $p = 0.3211$ per eGFR

Conclusioni: L'analisi della texture del miocardio nelle immagini ecocardiografiche potrebbe avere un ruolo nella diagnosi precoce e nella valutazione prognostica dell'amiloidosi cardiaca da transtiretina.

2. Introduzione

2.1. Cos'è l'amiloidosi

Con il termine “amiloidosi” si intende un ampio gruppo di malattie causate da un errato ripiegamento proteico, caratterizzate dalla deposizione extracellulare di uno specifico precursore, ovvero una proteina solubile che si aggrega sotto forma di fibrille insolubili.

Nella pratica clinica è fondamentale distinguere tra amiloidosi curabili e non curabili, inoltre, le amiloidosi con componente genetica devono essere distinte da quelle sporadiche, mentre le amiloidosi sistemiche devono essere distinte dalle forme localizzate[1]. L'amiloide depositato è chiaramente colorato dal rosso Congo e viene rilevato dalla birifrangenza denominata “verde mela” sotto luce polarizzata. Le fibrille amiloidi, in vivo, oltre alla proteina principale contengono composti associati, in particolare il *componente sierico dell'amiloide P* (SAP) e proteoglicani (principalmente eparan solfato proteoglicano). Utilizzando questa definizione esistono attualmente 36 proteine amiloidi umane di cui 14 appaiono solo associate ad amiloidosi sistemica e 19 come forme localizzate [2]. L'amiloidosi è ancora sottodiagnosticata, anche se i trattamenti sono ora disponibili e sono efficaci nel migliorare la sopravvivenza e la qualità della vita del paziente[3].

Questo disturbo è classificato in quattro forme principali: derivato dalle catene leggere delle immunoglobuline (AL), AA reattivo, correlato alla dialisi (beta2M) e transtiretina ereditaria (ATTR). Cuore, reni, tratto gastrointestinale e nervi periferici sono le sedi più frequentemente e facilmente soggette alla deposizione di amiloide extracellulare nell'amiloidosi sistemica[4].

2.2. Storia della scoperta dell'infiltrazione tissutale

Rudolph Virchow, scienziato e medico tedesco, nel 1854, introdusse e rese popolare il termine amiloide per denotare un'anomalia tissutale macroscopica che mostrava una reazione positiva alla colorazione con iodio nei tessuti cerebrali di individui affetti da demenza. Nel 1959, l'esame al microscopio elettronico di sezioni ultrasottili di tessuti infiltrati rivelò la presenza di fibrille misurabili in essi, queste fibrille vennero ritrovate anche in tessuti infiltrati di animali, tuttavia, la relazione spaziale dei proteoglicani e della componente amiloide P (AP), comune a tutte le forme di amiloide, con la proteina deputata alla formazione di tali fibrille nei tessuti, non era stata ancora dedotta[5].

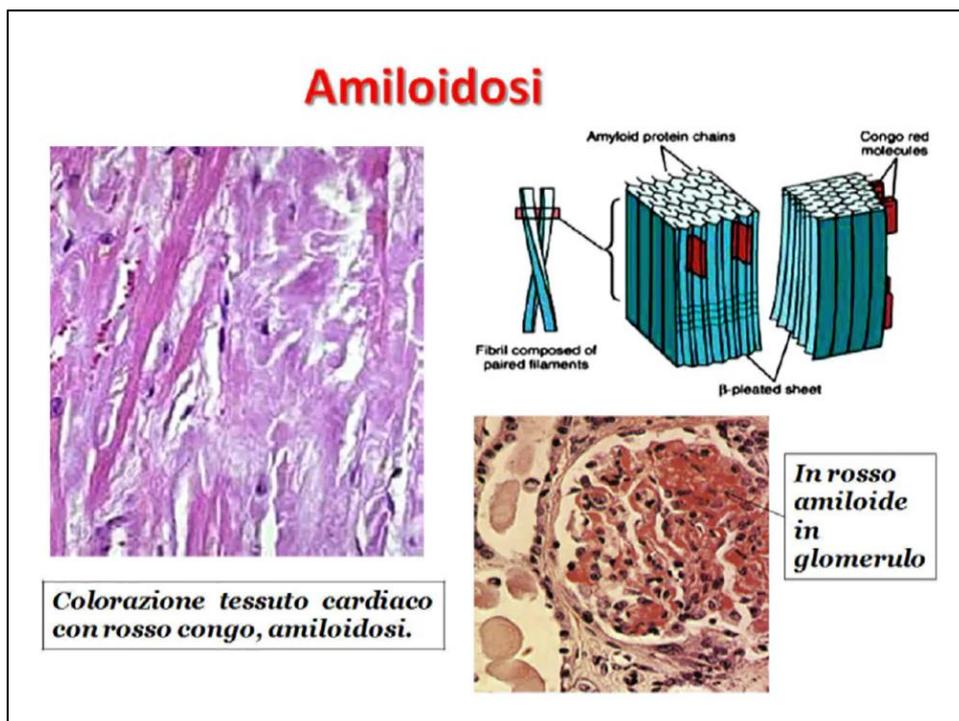


Figura 1: istologia e rappresentazione delle fibrille. Fonte: assocarenews

La componente proteica filamentosa del tessuto carico di amiloide è stata studiata mediante procedure di diffrazione di raggi X, quando orientato, il materiale fornisce un modello di raggi X "cross- β ".

I risultati radiografici sono interpretati in termini di una struttura a "foglio piegheggiato" formata dalla catena polipeptidica amiloide che si ripiega in modo regolare su se stessa in modo tale che segmenti di catena adiacenti siano disposti lateralmente in modo antiparallelo[6].

2.3. Fisiopatologia della malattia da accumulo di sostanza amiloide

L'accumulo della sostanza amiloide avviene in base alla propensione tissutale ed in base al tipo di proteina mal ripiegata che risulterà essere patogena. La struttura delle proteine appena create assume una modificazione in una "struttura secondaria" ripiegandosi fisiologicamente, la ripiegatura antiparallela β è invece una situazione patologica cardine del conseguente accumulo tissutale. Secondo la "*teoria del paesaggio energetico pieghevole*", il processo segue un percorso nel citoplasma simile a un imbuto in cui gli intermedi conformazionali si fondono progressivamente in una specie finale.

Nella malattia amiloide la proteina mal ripiegata è conseguenza di:

- Un accumulo sierico della proteina stessa o l'invecchiamento fisiologico
- Una sostituzione aminoacidica nella proteina
- Un rimodellamento proteolitico del precursore proteico[7]

Questi meccanismi possono agire indipendentemente o in associazione tra loro.

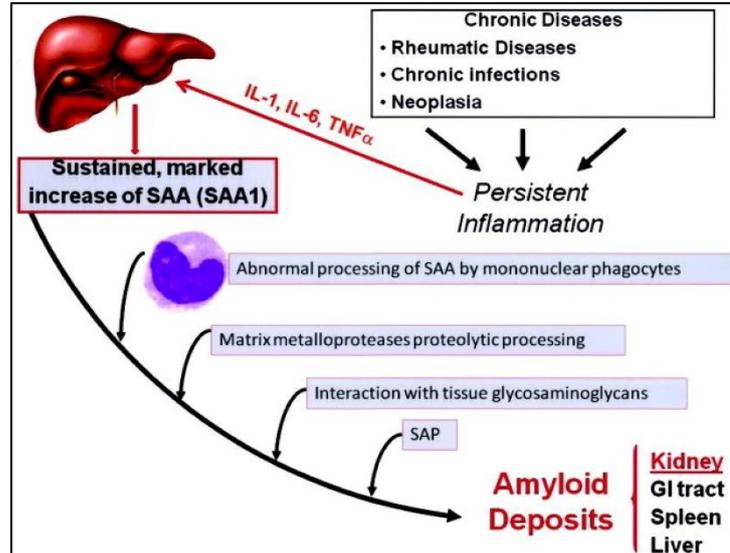
La stabilità proteica è un altro fattore importante che entra in gioco, sebbene la destabilizzazione sia necessaria, ma probabilmente non sufficiente per conferire una propensione amiloidogena a una proteina, sono necessarie altre caratteristiche strutturali per la formazione delle fibrille; ad esempio il Ph, i glicosaminoglicani e il componente sierico dell'amiloide P (SAP), possono esercitare effetti identici accelerando l'integrazione di un polipeptide solubile in una fibrilla più stabile[8]. L'amiloidosi appartiene propriamente alla categoria delle malattie conformazionali

perché l'aggregazione proteica patologica è in gran parte dovuta alla ridotta stabilità del ripiegamento e ad una forte propensione ad acquisire più di una conformazione.

2.4. Amiloidosi sistemica

La notevole diversità nella distribuzione degli organi dei depositi di amiloide rimane uno dei più importanti problemi irrisolti nelle ricerche sulla malattia.

Proteine specifiche si aggregano prevalentemente in determinati organi bersaglio: la beta2 . microglobulina nelle articolazioni, la catena del fibrinogeno A α nel rene e la variante della transtiretina Met30 nei nervi periferici.[7] La deposizione di grandi quantità di materiale fibrillare può sovvertire l'architettura tissutale e di conseguenza causare disfunzioni d'organo, settando inoltre un ambiente pro-infiammatorio e di



conseguenza una spinta cellulare verso la via apoptotica. Le fibrille amiloidi possono dunque causare disfunzioni d'organo interagendo con i recettori locali, come ad esempio il recettore RAGE [9].

Figura 2: principali eventi patogenici nell'amiloidosi sistemica.[10]

3. Amiloidosi cardiaca

Due tipi di amiloide si infiltrano comunemente nel cuore: l'amiloidosi da catena leggera delle immunoglobuline (AL) e l'amiloide da transtiretina (ATTR).

Il coinvolgimento cardiaco è la principale causa di morbilità e mortalità nell'amiloidosi sistemica, indipendentemente dalla sottostante patogenesi della produzione di amiloide[11]. Il deposito amiloide si instaura nel miocardio e tale processo d'infiltrazione porta ad un quadro di cardiomiopatia infiltrativa e restrittiva con conseguente ispessimento della parete biventricolare, rimodellamento ventricolare concentrico e conseguente bassa gittata cardiaca. Il successivo aumento della pressione nell'atrio è associato all'allargamento atriale ed i vasi intracardiaci sono spesso infiltrati da sostanza amiloide, la quale compromette la perfusione miocardica, portando ad ischemia miocardica[12].

3.1. Epidemiologia

Attualmente, l'amiloidosi è considerata una malattia "rara", definita tale in quanto colpisce 1 paziente su 200.000 negli Stati Uniti e meno di 1 paziente su 2.000 in Europa; tuttavia, diversi nuovi studi suggeriscono che l'AC, in particolare ATTR-CA, potrebbe essere più comune di quanto precedentemente apprezzato e sottovalutato. Uno studio ha rilevato che l'incidenza di AC era del 9% nei pazienti con una diagnosi primaria di cardiomiopatia ipertrofica (HCM) e aumentava con l'età dall'1% in quelli di età compresa tra 40 e 49 anni al 26% in quelli di età superiore a 80 anni, pertanto, l'AC dovrebbe essere considerata nella diagnosi differenziale nei pazienti anziani con aumentato spessore della parete sopra cardiaca, soprattutto se viene fatta una nuova diagnosi di HCM a questa età.

Infine, studi autoptici hanno riportato una prevalenza del 10-25% dei depositi di amiloide cardiaco nei soggetti anziani (età > 80 anni), sottolineando che la condizione è più comune di quanto si pensasse [13]. In un'ampia analisi epidemiologica degli esiti del ricovero da heart failure (HF) per CA, tra i beneficiari Medicare di età superiore

ai 65 anni, Gilstrap et al. ha riscontrato un aumento della prevalenza di amiloidosi cardiaca tra il 2000 e il 2012, inclusi 4746 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi cardiaca nel 2012 e un aumento significativo dopo il 2006 (Figura 2).

Gli autori hanno suggerito che sarebbe ragionevole considerare l'AC nel trattamento di pazienti di età superiore ai 65 anni con insufficienza cardiaca di nuova diagnosi[10].

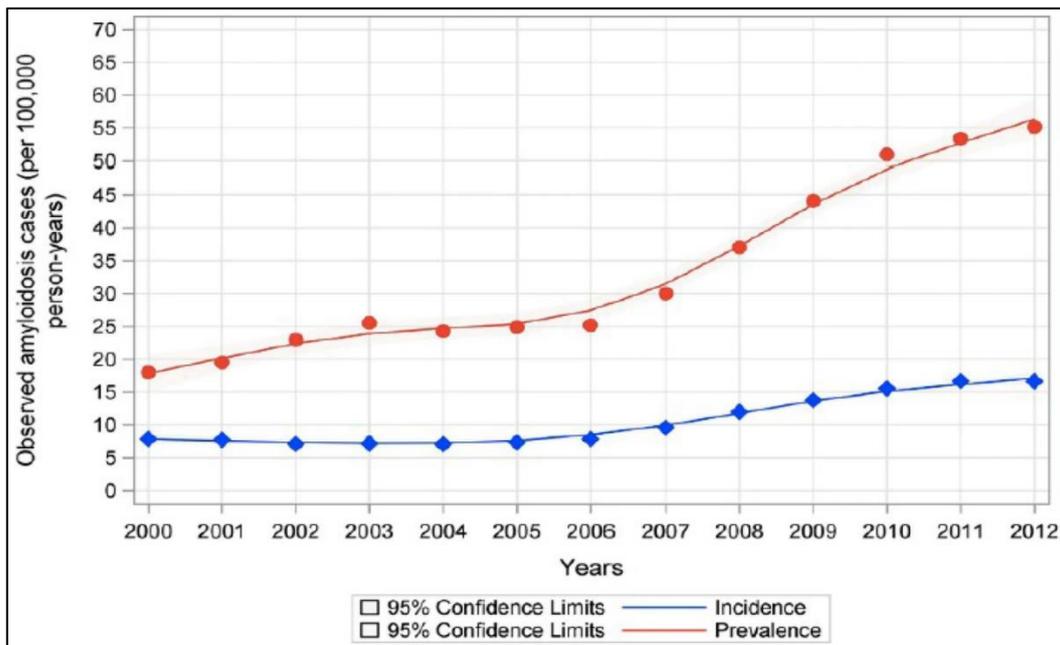


Figura 3: incidenza della CA in pazienti beneficiari Medicare[12].

3.2. Tipologie

3.2.1.AL-AC

L'amiloidosi da catena leggera amiloide (AL) è tra le amiloidosi non genetiche più comuni e più gravi, colpisce 1 individuo su 100.000.000, essa comporta la lenta proliferazione di un piccolo clone di plasmacellule (PC) che risiedono nel midollo osseo e la secrezione di catene leggere libere da immunoglobuline instabili (FLC).

La presentazione della malattia è piuttosto vaga e il segno distintivo del trattamento è la diagnosi precoce prima del danno irreversibile agli organi ed, una volta

diagnosticata, la decisione terapeutica è guidata dal trapianto di cellule staminali (ASCT) [14].

Queste catene leggere libere amiloidogeniche (FLC) possono quindi infiltrare gli organi periferici, causando disfunzione ed eventuale insufficienza d'organo.

Le catene leggere potrebbero infiltrare molti organi, ma di solito tra gli organi più coinvolti annoveriamo i reni, il cuore, il tratto gastrointestinale (GI), il fegato e il sistema nervoso. Per quanto riguarda il coinvolgimento cardiaco è senza dubbio il fattore più importante nella prognosi e nella mortalità della malattia [15].

Dato che oltre il 69% dei pazienti ha già più di un organo coinvolto al momento della diagnosi [16], diventa molto importante non solo diagnosticare precocemente l'amiloidosi AL, ma anche controllare tempestivamente ed efficacemente le discrasie delle plasmacellule al fine di arrestare l'escalation del danno d'organo il più precocemente possibile.

L'effetto del numero di organi coinvolti sulla sopravvivenza è stato studiato nella stessa coorte e c'è stata una significativa diminuzione della sopravvivenza all'aumentare del numero di organi coinvolti ($p < 0,001$)¹. Tuttavia, non è solo il numero di organi coinvolti nella malattia, ma anche il tipo di organi coinvolti a determinare la sopravvivenza.

Tra gli organi coinvolti il cuore rimane comunque il più soggetto, con il 70% dei casi, e rappresenta il principale fattore prognostico negativo, causando insufficienza cardiaca con frazione di eiezione preservata (HFpEF). Anche proteinuria nefrosica, organomegalia dovuta a depositi di amiloide (epatomegalia, macroglossia, ingrossamento delle ghiandole salivari ecc.), neuropatia periferica e sintomi costituzionali (peso perdita, stanchezza ecc.) sono alcuni esempi di costellazioni di sintomi comuni[17].

Si rende necessaria un'indagine più approfondita in soggetti affetti da gammopatie monoclonali di significato indeterminato (MGUS), i quali gioverebbero di un follow-up non invasivo con la misurazione dell'albuminuria e del peptide natriuretico pro-

¹ A Modern Primer on Light Chain Amyloidosis in 592 Patients With Mass Spectrometry-Verified Typing

cerebrale N-terminale (NT-proBNP), una volta che un componente monoclonale è sospettato e confermato, è necessaria una biopsia tissutale (adipe, midollo osseo, ghiandola salivare o l'organo coinvolto) e una tipizzazione (la spettrometria di massa è l'attuale gold standard, microscopia elettronica, immunofluorescenza e immunistochimica). Successivamente, viene eseguita una stratificazione del rischio e stadiazione della malattia [18].

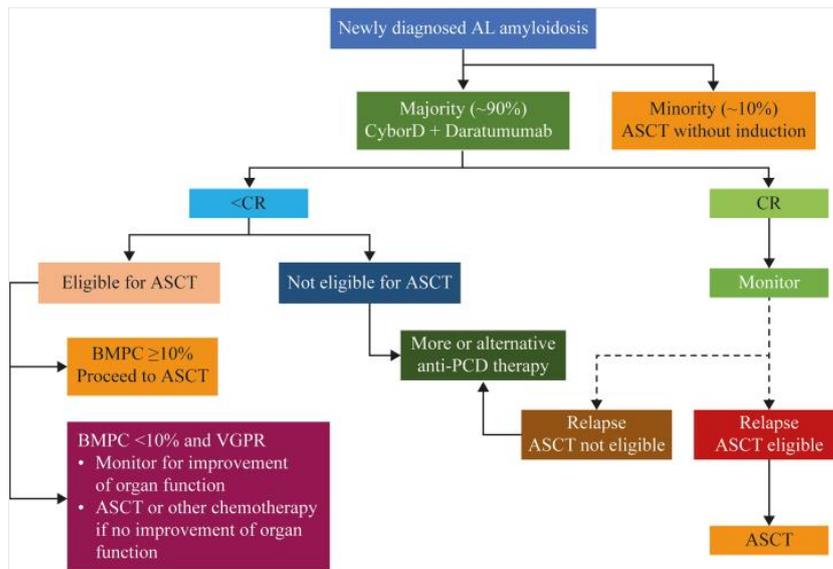


Figura 4: algoritmo del trattamento dei pazienti con AL-Amiloidosi

3.2.2.ATTRv-AC

La variante di amiloidosi da transtiretina (ATTRv) è una malattia autosomica dominante con penetranza variabile, nella quale la trasmissione può avvenire anche da soggetti asintomatici, e ci sono prove che la trasmissione avviene in maggior penetranza dalle donne rispetto che dagli uomini affetti². L'età di insorgenza varia dalla seconda alla nona decade di vita, ma è soggetta ad una grande variabilità in base

² TTR familial amyloid polyneuropathy: does a mitochondrial polymorphism entirely explain the parent-of-origin difference in penetrance?

alla localizzazione geografica: nel nord Europa l'età media si attesta intorno ai 56 anni, mentre nel Giappone ed in Portogallo, ad esempio, è molto più precoce (33 anni).

La durata media dall'insorgenza della malattia fino alla morte del paziente è di circa 10 anni, ma può variare anch'essa a seconda della regione endemica, del genotipo, dei sintomi e di altri fattori. La patogenicità dell'amiloidosi da transtiretina ereditaria (ATTRv) è caratterizzata dalla formazione e dall'immagazzinamento di aggregati amiloidi in molti organi; più di 120 varianti di TTR (TTRv) sono note, con migliaia di casi in tutto il mondo.

Dal punto di vista clinico queste condizioni causano principalmente una situazione di disautonomia, disfunzione gastrointestinale, cardiomiopatia e neuropatia sensitivo-motoria assonale ed il coinvolgimento degli organi e i sintomi clinici dipendono ampiamente dal tipo di mutazione. Per quanto riguarda l'interessamento cardiaco è appannaggio della mutazione *Val122Ile* e *Ile68Leu* ed è molto più presente nell'etnia caucasica, l'interessamento neurologico riguarda la mutazione *Val30Met* ed è quello ad insorgenza più precoce; esistono comunque anche forme miste dei due interessamenti [19]. Il cuore è coinvolto dal 30% al 100% dei casi, e può portare ad un quadro di scompenso cardiaco a pEF, fibrillazione atriale e/o turbe al sistema di conduzione atrio-ventricolare.

Qualora si riscontrino pazienti con sintomi neurologici e cardiologici, senza nessuna neuropatia sottostante, bisogna realizzare il sospetto di AC ed agire tempestivamente con indagini diagnostiche non invasive, come elettrocardiografia (ECG), ecocardiografia, scintigrafia con traccianti ossei, biomarcatori (peptide natriuretico cerebrale [BNP] e troponina I o T) e risonanza magnetica cardiaca. Queste indagini di solito forniscono tutte le informazioni necessarie per diagnosticare la cardiomiopatia infiltrativa cardiaca.

Qualora si necessiti di effettuare una diagnosi invasiva per confermare l'amiloidosi, è essenziale la dimostrazione dei depositi di amiloide mediante biopsia tissutale. La deposizione di amiloide nel tessuto può essere dimostrata dalla colorazione rosso Congo dei campioni biotici, i quali mostrerebbero una caratteristica birifrangenza

verde sotto luce polarizzata. La diagnosi precoce gioca un ruolo chiave, insieme al supporto del paziente: Tafamidis, Diflunisal o qualsiasi altro trattamento dimostrato di essere efficace dovrebbe essere iniziato immediatamente.

La prognosi dipende dalle mutazioni, poiché ogni mutazione è correlata ad un particolare coinvolgimento dell'organo: i pazienti con la mutazione Val142Ile vivono in media per 31 mesi. I pazienti con una mutazione non Val142Ile hanno una sopravvivenza di 69 mesi. La mutazione Val122Ile ha una previsione inferiore a quella di ATTRwt [15]

3.2.3.ATTRwt-AC

La cardiomiopatia da transtiretina amiloide wild-type (ATTRwt-CM), in passato considerata una condizione rara, è attualmente considerata una causa molto comune di insufficienza cardiaca negli anziani. Il primo segno della malattia è la presenza di depositi crescenti di transtiretina (TTR) amiloide nella matrice miocardica extracellulare, essa è una proteina plasmatica sintetizzata dal fegato ed in minima parte dal plesso corioideo e dalla retina, deputata al trasporto della tiroxina e della proteina legante il retinolo; con l'invecchiamento essa tende ad organizzarsi in fibrille insolubili e a depositarsi a livello della matrice extracellulare.

Questo porta allo sviluppo di una cardiomiopatia infiltrativa, che ha una prognosi sfavorevole. La cardiomiopatia da transtiretina amiloide wild-type colpisce principalmente gli uomini di età superiore ai 60 anni, ma anche le donne possono essere altresì colpite, mentre i neri americani corrono un rischio maggiore di sviluppare insufficienza cardiaca congestizia e i loro esiti clinici con insufficienza

cardiaca sono meno favorevoli rispetto ai caucasici³. Le prime fasi di ATTRwt CM possono manifestarsi come insufficienza cardiaca con frazione di eiezione conservata (HFpEF) e possono anche simulare una cardiopatia ipertensiva o una cardiomiopatia ipertrofica, il che aumenta il rischio di diagnosi errate[20] entrando quindi in diagnosi differenziale con stenosi aortica, disturbi della conduzione atrioventricolare o fibrillazione atriale. Il deposito amiloide può instaurarsi anche in altri organi oltre al cuore, il segno cardine di sospetto iniziale è la tendinopatia del tunnel carpale, la quale risulta presente nel 50% dei pazienti circa 5-7 anni prima dell'insorgenza dei sintomi cardiaci [21]. La deposizione di amiloide nel legamento giallo può causare compressione e restringimento del canale spinale nei pazienti con amiloidosi ATTR. Il 33 per cento dei pazienti con amiloidosi ATTR sperimenta una rottura atraumatica del tendine distale del bicipite, che causa un particolare "segno del braccio di ferro", e una lesione della cuffia dei rotatori che richiede un trattamento chirurgico [22]. Molto importante è l'approccio terapeutico, poiché in assenza di una terapia adeguata l'aspettativa di vita si stanza sui 3-5 anni.

3.3 Manifestazioni cliniche

L'ATTR è generalmente considerata una malattia principalmente neurologica, ma è fenotipicamente eterogenea e lo spettro clinico varia molto da casi apparentemente sporadici con una presentazione strettamente cardiaca a casi quasi completamente neurologici in situazioni con un pregresso quadro familiare[23].

La diagnosi risulta insidiosa poiché le manifestazioni cliniche sono aspecifiche e ricalcano la sintomatologia d'esordio di molte altre patologie cardiache, tra i sintomi d'esordio più annoverati troviamo una marcata astenia, scarsa tolleranza all'esercizio fisico, dispnea e malessere generale. Come anticipato il quadro clinico è quello di una

³ Transthyretin Cardiac Amyloidosis in Black Americans. PMID: 27188913; PMCID: PMC4874558

cardiopatìa restrittiva infiltrativa che genera un quadro di scompenso cardiaco a preservata frazione d'eiezione (pEF) o lievemente ridotta con, in aggiunta, una sintomatologia autonómica evidente, caratterizzata da: ipotensione ortostatica, sintomatologia vescica neurogena, impotenza erettile, disturbi gastro-intestinali. Per quanto riguarda invece la sintomatologia prettamente cardiologica è frequente il riscontro di edema polmonare secondario alla condizione di scompenso cardiaco, ben obiettivabile tramite crepitii polmonari all'auscultazione, edemi declivi, epato-spleno megalia, turgore delle giugulari, ortopnea e dispnea parossistica notturna. L'evoluzione della situazione cardiaca porta all'insorgenza di disordini dell'attività elettrica cardiaca come [24]:

- tachicardie sopra ventricolari
- fibrillazione atriale
- blocchi atrio-ventricolari

A conferma dello squilibrio elettrico che va ad instaurarsi vi è il fatto che la causa di morte in questi pazienti è sovente correlata alla genesi di aritmie maligne.

3.4 . Indagini strumentali

Sebbene la presentazione clinica sia molto significativa, l'implementazione della diagnosi con indagini strumentali gioca un ruolo di primaria importanza, grazie ai passi avanti nell'ambito della tecnologia effettuati e all'anatomia stessa che ci viene in aiuto, essendo il cuore un organo facilmente esplorabile nella sua parte elettrofisiologica e conformazionale anche solo con indagini non invasive. Ovviamente per caratterizzare al meglio la diagnosi di cardiomiopatia amiloidotica vengono in aiuto

strumenti più avanzati ed invasivi, come la biopsia tissutale o la scintigrafia ossea con ^{99m}Tc .

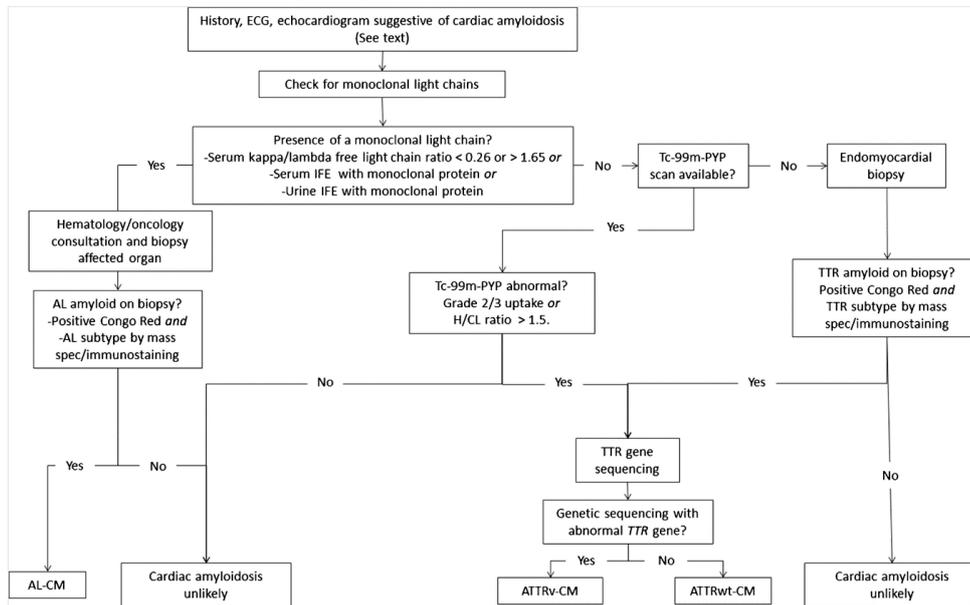


Figura 5: Algoritmo diagnostico per l'amiloidosi cardiaca (Lily K. Stern & Michelle M. Kittleson)

3.4.1 ECG

Anche negli stadi avanzati dell'amiloidosi cardiaca l'ECG può essere normale, ma può ancora offrire indizi sull'infiltrazione di amiloide e aiutare a confermare la diagnosi se combinato con i risultati dell'imaging e la clinica. Nei pazienti con ipertrofia del ventricolo sinistro, il reperto ecocardiografico tipico è normale o bassi voltaggi del QRS (1 mV nelle derivazioni precordiali e 0,5 mV nelle estremità), ciò si verifica più frequentemente in AL-CA (45%) che in ATTR-CA (23-31%)[25].

Questo dato può essere interpretato come contro intuitivo, poiché normalmente in un organo con sembianze ipertrofiche i voltaggi dovrebbero essere aumentati, la motivazione di questi bassi voltaggi invece risiede nella pseudo-ipertrofia dei cardiomiociti nei cuori amiloidotici. Le cellule cardiache, sebbene di dimensioni maggiori, sono formate prevalentemente da materiale amiloidotico che risulta elettricamente silente, e quindi incapace di generare voltaggi.

Altre caratteristiche includono il blocco atrioventricolare, il blocco di branca o uno schema pseudo-infartuale con onde Q patologiche di ampiezza di almeno 1 mV in due o più derivazioni contigue o una lenta progressione dell'onda R nelle derivazioni precordiali, il pattern pseudo-infartuale è presente nel 70% dei casi e può condurre ad una diagnosi errata di sindrome coronarica[21].

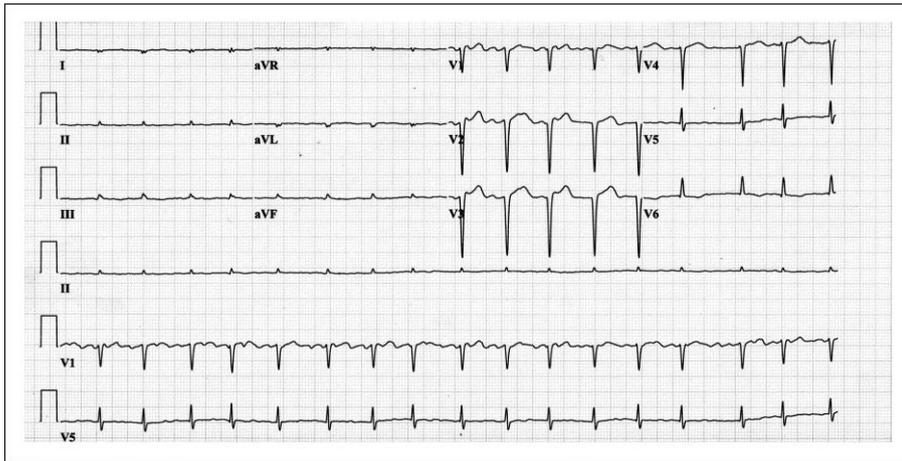


Figura 6: bassi voltaggi rilevati nelle derivazioni periferichei (American journal of cardiology)

Dal punto di vista aritmologico, invece, l'aritmia più diffusa con un tasso di recidiva significativo è la fibrillazione atriale[26].

Sebbene questa metodica sia poco invasiva e disponibile nella maggior parte degli ambulatori, l'ECG non deve essere utilizzato da solo come tecnica di screening per i pazienti con sospetta CA a causa della sua bassa sensibilità, anche se rimane comunque uno strumento molto valido per avere il riscontro della situazione elettrica del cuore, e rilevare le aritmie più comuni. Uno studio ha provato ad implementare la refertazione degli ECG di pazienti amiloidotici utilizzando l'intelligenza artificiale, traendone la conclusione che un modello ECG guidato dall'intelligenza artificiale rileva efficacemente la CA e può promuovere la diagnosi precoce di questa malattia potenzialmente letale [27].

3.4.2 Ecocardiografia

L'ecocardiografia è la metodica chiave nella diagnosi di ATTR-AC, dato che si tratta di un esame non invasivo molto utilizzato nei pazienti con scompenso o anomalie cardiache presenti all'esame obiettivo[28]. I pazienti con amiloidosi possono mostrare anomalie cardiache significative, molte delle quali sono altamente indicative della malattia. Un aspetto ecocardiografico distinto nei pazienti con amiloidosi cardiaca è l'ispessimento delle pareti del ventricolo sinistro \geq a 12 mm, reperto tipico della pseudo-ipertrofia a cui sono soggetti i cardiomiociti, che non risultano aumentati di numero o dimensioni, ma sono infiltrati da materiale amiloide funzionalmente inerte[29]. Tale ipertrofia si può trovare anche nel setto interventricolare se misura \geq 12mm, nella parete libera del ventricolo destro e nell'apparato valvolare, e può essere asimmetrica.

Sebbene il ventricolo sinistro non si dilati quasi mai nell'amiloidosi cardiaca, la dilatazione del ventricolo destro può verificarsi in una fase avanzata della malattia e comporta una prognosi infausta.

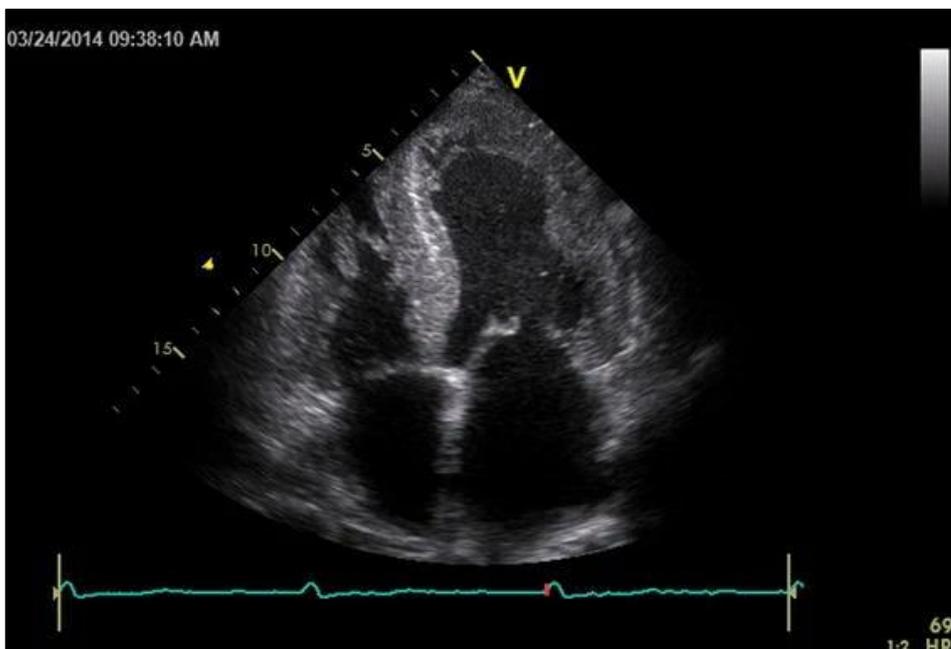


Figura 7: ipertrofia del setto interventricolare all'ecocardiogramma (Fonte: Falk, RH, Quarta, CC Ecocardiografia nell'amiloidosi cardiaca)

Con l'introduzione dell'ecocardiografia bidimensionale le misurazioni degli spessori dovrebbero tener conto delle proiezioni più adatte alla zona anatomica in studio:

- Misurazione della parete del ventricolo destro (RV): lo spessore della parete del ventricolo destro viene valutato al meglio dalla finestra sottocostale con messa a fuoco ingrandita sul ventricolo destro.
- Misurazione del setto interventricolare (IVS): questo può essere difficile a causa delle strutture del ventricolo destro (es: trabecole), la proiezione ottimale risulta quindi essere quella parasternale in asse corto.
- Misurazione atriale sinistra (LA): proiezioni LA dedicate, che mostrano l'intera lunghezza dell'atrio, dovrebbero essere acquisite nelle viste apicali a 4 e 2 camere.

Dal punto di vista non misurativo, la caratteristica evidente dell'infiltrazione amiloidosica del miocardio e dell'apparato valvolare è la presenza di fibrille amiloidi che presentano un pattern di luminosità delle fibrille detto "*granular sparkling*", evidente più tardivamente all'apice, il quale però non risulta bastevole come diagnosi di AC.

L'uso di Doppler color-flow, Doppler ad onda pulsata e Doppler ad onda continua ha migliorato l'accuratezza della diagnostica dell'amiloidosi cardiaca e ha fornito una panoramica sulla fisiopatologia dell'insufficienza cardiaca in questa condizione. Sebbene tutte le valvole siano spesso ispessite, probabilmente a causa dell'infiltrazione di amiloide, il color-flow Doppler mostra spesso una disfunzione valvolare volumetricamente lieve, di conseguenza, questa condizione raramente contribuisce in modo significativo all'insufficienza cardiaca congestizia. Al contrario, la disfunzione diastolica grave, che si verifica con l'ispessimento delle pareti, è relativamente comune. Le curve di velocità sistoliche e diastoliche misurate a livello dell'anulus mitralico, rispetto ad altre patologie a fenotipo ipertrofico, sono notevolmente inferiori nei pazienti con amiloidosi cardiaca [29].

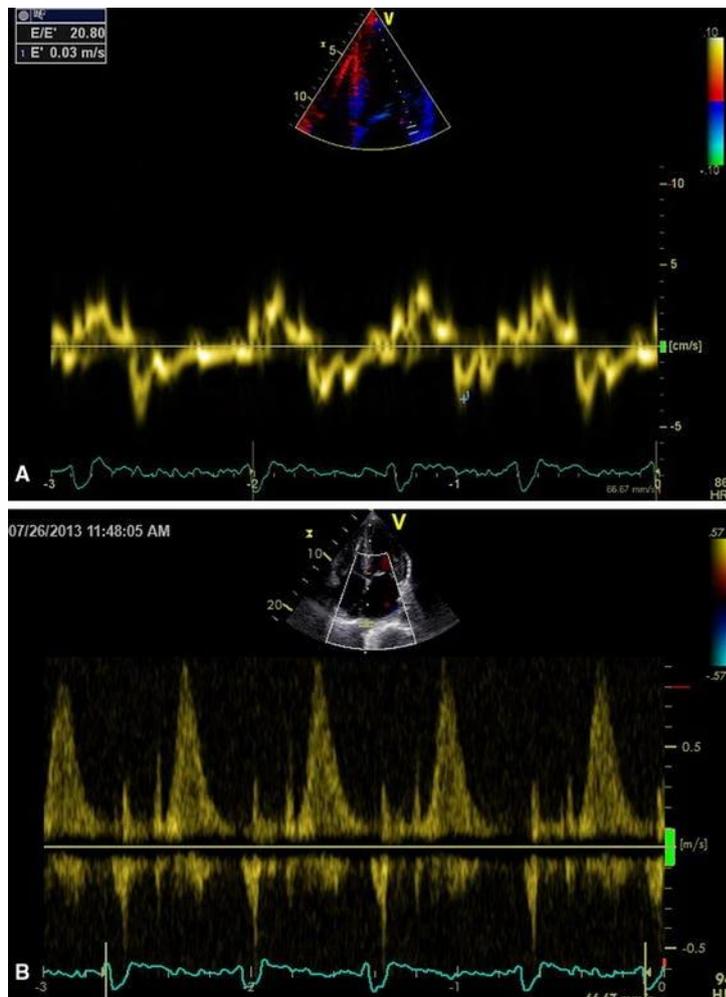


Figura 8: **a** Misurazione E ' marcatamente diminuita sul Doppler tissutale della parete laterale in un paziente con amiloidosi cardiaca. Figura **b** misurato mediante Doppler pulsato mostrava un flusso in avanti limitato alla diastole coerente. (Fonte Falk & Quarta)

L'ecocardiografia speckle-tracking, una tecnica quantitativa ad ultrasuoni che analizza il movimento delle particelle colorate all'ecogramma, è recentemente emersa come metodo per valutare in modo approfondito la funzione miocardica multidirezionale. Indipendentemente dall'angolo, essa fornisce una quantificazione non-Doppler della deformazione miocardica e della dinamica sistolica e diastolica del ventricolo sinistro. Dopo un'adeguata acquisizione dell'immagine, la deformazione stessa e la sua velocità di deformazione possono essere rapidamente misurate offline spostando le "macchioline" durante il ciclo cardiaco.

I dati riguardanti l'accuratezza, la fattibilità e le applicazioni cliniche dell'ecocardiografia speckle-tracking si stanno accumulando rapidamente [30]. Il "global longitudinal strain", che è un importante indice di funzione sistolica del VS, subisce un cambiamento significativo nei parametri che valutano lo strain di parete: nella AC l'ipocinesia della base del SIV è associata ad un risparmio relativo dell'apice cardiaco, un fenomeno noto come "apical sparing", il quale ha aumentato la probabilità di diagnosi di CA ma con sensibilità e specificità modeste [31].

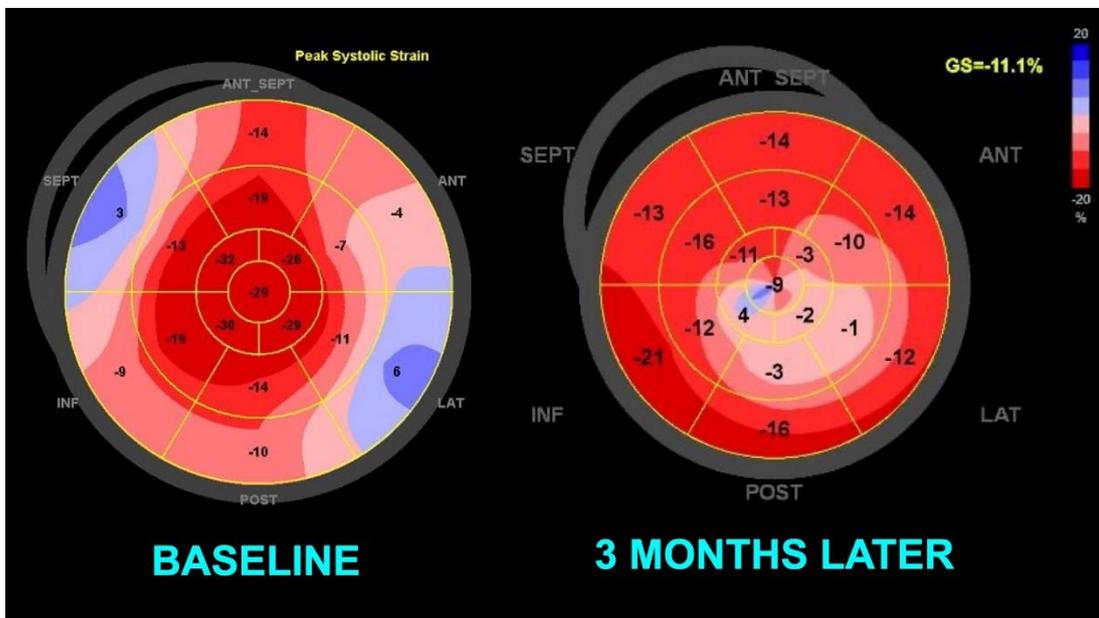


Figura 9: evoluzione dell'apical sparing Fonte: Wiley online library.

3.4.3 PET

Utilizzando radiotraccianti mirati che legano l'amiloide, l'imaging PET offre la possibilità di rilevare tutti i depositi di amiloide indipendentemente dal precursore proteico originale. Primi studi pilota che utilizzano ¹¹C-PiB e ¹⁸F-florbetapir hanno dimostrato che la PET può essere in grado di rilevare AL-CA anche prima di un aumento dell'ispessimento della parete ventricolare sinistra o di alterazioni dei biomarcatori cardiaci [32], ciò amplierebbe strade precedentemente limitate nella diagnosi, nel monitoraggio e nella gestione dell'amiloidosi cardiaca AL.

La PET/TC con ¹⁸F-Florbetaben può essere uno strumento diagnostico non invasivo di primo livello che può ridurre il tempo necessario per la diagnosi di Amiloidosi AL e potrebbe anche ridurre la necessità di esami invasivi come la biopsia endomiocardica.

3.4.4 RM cardiaca

La risonanza magnetica cardiaca (CMR) fornisce una "seconda opinione" sulla struttura e sulla funzione sistolica del cuore con maggiore precisione e accuratezza rispetto all'ecocardiografia, ma non è in grado di valutare la funzione diastolica, non è così disponibile in tutti i centri ed è un esame che impiega circa un'ora per essere svolto. La valutazione della caratterizzazione del tessuto miocardico è uno dei vantaggi della CMR, con sensibilità e specificità del 100% e dell'80% nello stabilire la diagnosi di coinvolgimento cardiaco [33].

La risonanza magnetica cardiaca utilizza un magnete superconduttore con gating ECG per studiare il cuore, ottenendo informazioni sull'anatomia extracardiaca, sulla struttura, sulla funzione e sulle caratteristiche particolari del tessuto miocardico. Sebbene la CMR sia molto sensibile e precisa, la resa diagnostica e l'importanza dei risultati dipendono dalla probabilità pre-test. Le informazioni cardine che otteniamo grazie alla CMR sono la possibilità di vedere l'infiltrato amiloide a livello dell'apice, del setto, della parete libera del ventricolo destro e dell'apparato valvolare, inoltre la

presenza di versamenti e ascite in presenza di una funzione sistolica preservata (ad es. frazione di eiezione normale) è un indizio della presenza di amiloidosi cardiaca, così come la presenza di ascite, indicativa di insufficienza cardiaca destra, è spesso

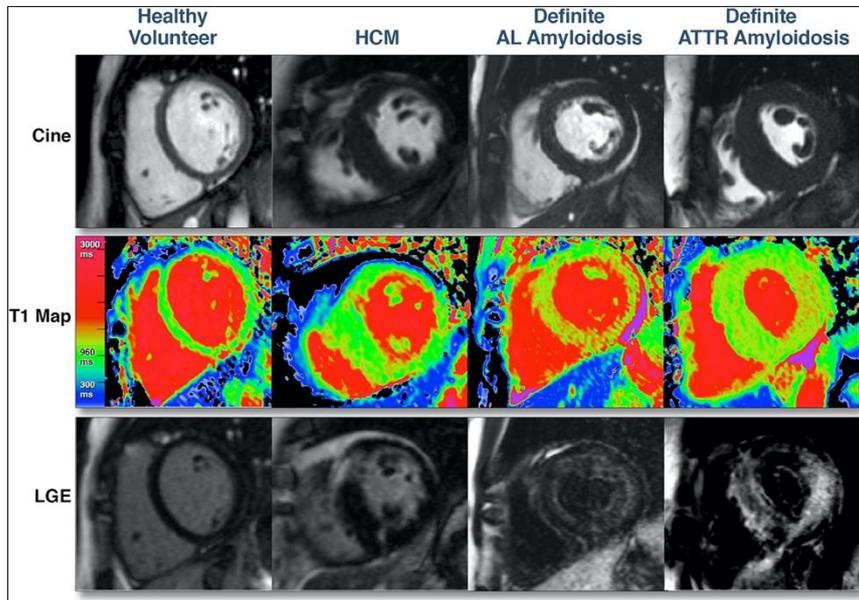


Figura 10: Immagini di RM in controlli e in pazienti con Cardiomiopatia ipertrofica (HCM) e con Amiloidosi cardiaca sia AL che ATTR. Fonte: Fontana 2015

osservata nelle fasi successive dell'amiloidosi cardiaca[34].

Il segnale rilevato con T1, T2 senza contrasto dal miocardio può essere utilizzato per differenziare il miocardio normale da quello anormale ma con valore limitato. Grazie alla possibilità di somministrare gadolinio come mezzo di contrasto, questo esame acquisisce ancor più precisione: nelle aree di tessuto “cicatrizziale”, o nelle regioni di deposito di amiloide, l'impermeabilità del mezzo di contrasto al gadolinio è prolungata rispetto al miocardio normale.

Dopo la somministrazione del mezzo di contrasto al gadolinio nel tessuto sano, si verificherà un abbassamento diffuso di T1 nell'intero miocardio. Nell'area focale dell'amiloide/cicatrice i valori regionali di T1 sono rilevabilmente più bassi, il che costituisce la base della LGE per il rilevamento qualitativo[33].

Come l'ecocardiografia, la risonanza magnetica cardiaca non è in grado di differenziare la ATTR-AC dalla AL-AC, e si aggiungono note negative come il rischio di reazioni avverse al mezzo di contrasto.

3.4.5 Scintigrafia cardiaca

La scintigrafia ossea è una tecnica di medicina nucleare che tramite l'utilizzo di traccianti consigliati per identificare i depositi di amiloide a livello cardiaco come: il ^{99m}Tc -pirofosfato (^{99m}Tc -PYP); il propan-dicarbossilico ^{99m}Tc -3,3-difosfono-1,2-acido (^{99m}Tc -DPD); ed il ^{99m}Tc -idrossimetilen-difosfonato, anche noto come ^{99m}Tc -HMDP è capace di studiare i depositi cardiaci di sostanza amiloide TTR che si legano a questi traccianti, per motivi ancora ignoti[35].

Al fine di creare dei parametri di valutazione dell'infiltrazione cardiaca di TTR in relazione all'utilizzo della medicina nucleare, nel 2016, Perugini et al. hanno dimostrato che l'accumulo di ^{99m}Tc -DPD nel cuore è molto specifico di ATTR-CA, creando così uno score che risulterà molto utile nella classificazione e quantificazione di interesse cardiaco in corso di amiloidosi TTR.

- Grado 0: nessun accumulo cardiaco di tracciante;
- Grado 1: captazione lieve, minore rispetto a quella ossea;
- Grado 2: captazione cardiaca comparabile a quella ossea;
- Grado 3: captazione cardiaca significativa, maggiore rispetto a quella ossea.

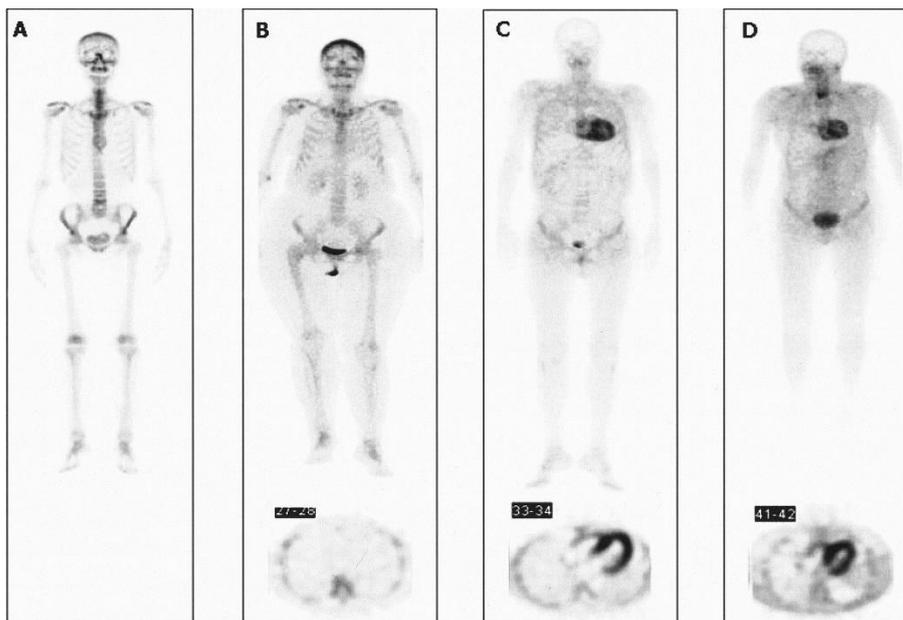


Figura 11: classificazione di Perugini (Fonte: Perugini et al. 2016)

Sebbene la scintigrafia cardiaca non abbia la capacità di chiarire informazioni strutturali o emodinamiche simili all'ecocardiografia o alla CMR, fornisce un valore incrementale grazie alla sua capacità unica di differenziare tra amiloidosi AL e ATTR. Nei pazienti con fratture costali e/o sternali, infarto miocardico recente, cardiotoxicità da idrossiclorochina, "pooling" di sangue e amiloidosi AL o altre rare forme di AC come quella associata alla β 2-microglobulina, la scintigrafia con ^{99m}Tc con può dare risultati falsi positivi. Gli errori negativi possono verificarsi quando vengono utilizzati traccianti non validati, quando vengono acquisite immagini troppo precocemente o troppo tardivamente, quando c'è una minima infiltrazione di amiloide nel miocardio e quando c'è un infarto miocardico pregresso. Possono anche verificarsi in alcune forme di ATTR-AC, come quando c'è una mutazione Phe64Leu che causa la sintesi di una fibrilla amiloide tronca che non può legare il tracciante[36].

3.5 Biopsia tissutale

La biopsia endomiocardica, il gold standard diagnostico per il rilevamento della CA, è associata a costi elevati, un rischio relativamente basso di complicanze gravi e alla necessità di competenze tecniche specialistiche e attrezzature ospedaliere carenti, che possono causare ritardi.

Sebbene l'ultimo "position statement" della ESC sulla diagnosi e il trattamento della amiloidosi cardiaca sottolinea che, sulla base del lavoro di Gillmore et al., in presenza di un grado di Perugini 2 o 3 sulla scintigrafia ossea, associato all'assenza di evidenza laboratoristica di componente monoclonale o di un sospetto clinico di Amiloidosi AL, non è più necessaria una biopsia endomiocardica [37], questo esame rimane il gold standard per l'identificazione dell'infiltrato di ATTR tissutale.

Il materiale amiloide può essere facilmente visibile dato che avvolge singoli miociti nei pazienti con casi di malattia avanzata. L'identificazione positiva può essere effettuata con rosso Congo, tioflavina-T o altri coloranti. Nel coinvolgimento iniziale, la microscopia può essere il metodo di esame più sensibile, mostrando depositi di amiloide nell'interstizio e nei vasi sanguigni e attorno alle cellule del miocardio. La

Biopsia cardiaca ha un ulteriore ruolo diagnostico nella differenziazione tra le varie malattie costrittive [38].

Le sedi extra-cardiache soggette a prelievo di materiale biotico sono: il grasso addominale periombelicale, la mucosa gengivale, la cute, le ghiandole salivari o il tratto GI, mentre la biopsia endo-miocardica è una procedura invasiva a cui si può ricorrere qualora la biopsia extra-cardiaca non sia facilmente eseguibile o non sia opportunamente diagnostica [39].

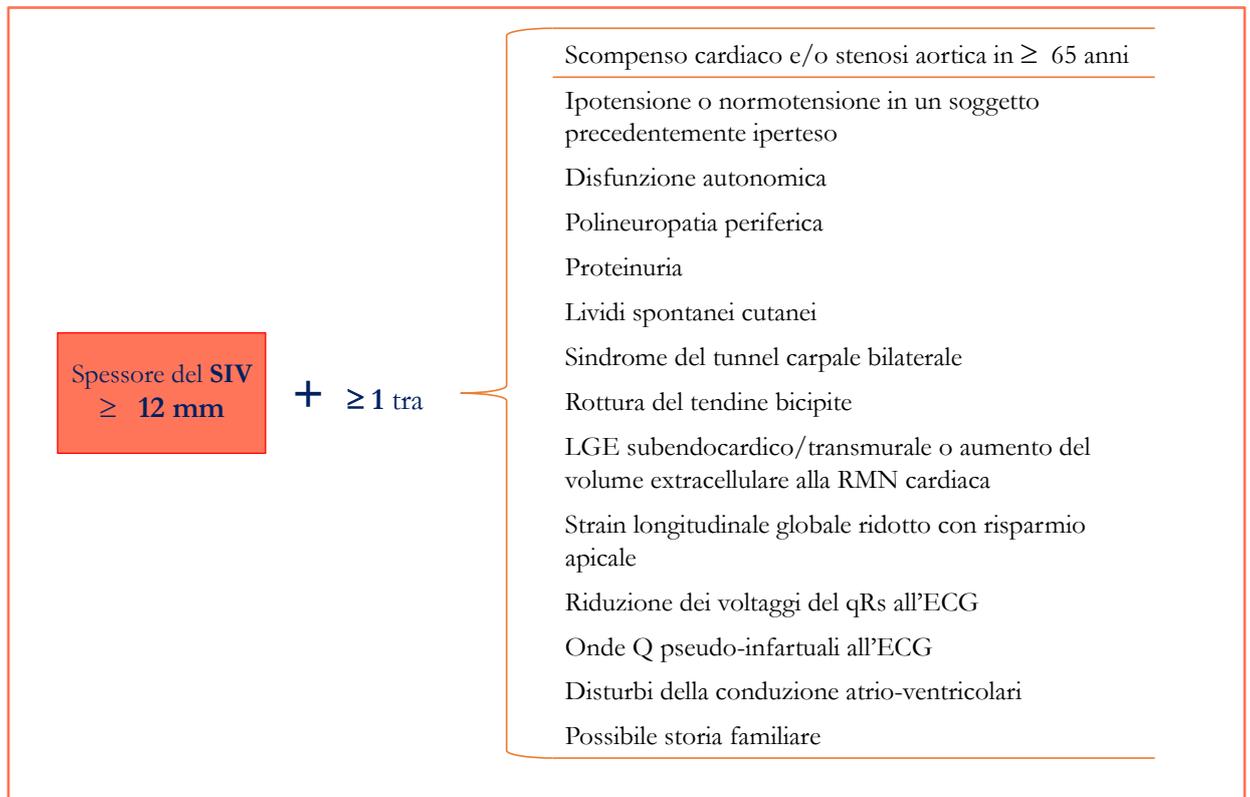
3.6 Test genetici

Tutti i casi in cui è stata confermata una diagnosi di ATTR-AC dovrebbero essere sottoposti ad un test genetico per cercare mutazioni (presenti sul cromosoma 18, ove è ubicato il gene codificante per la TTR), poiché le forme ereditarie e acquisite di ATTR-AC non possono essere distinte solo sulla storia clinica e familiare del paziente. Questo è dovuto al fatto che spesso il tratto autosomico dominante della trasmissione è assente a causa della penetranza incompleta della mutazione e/o dal fatto che il quadro clinico di una famiglia con uguale genotipo può essere molto diverso. Lo screening dei familiari richiede l'identificazione di mutazioni genetiche nella transtiretina e risulta di vitale importanza per una diagnosi precoce della malattia e per l'adozione di approcci terapeutici al fine di migliorare la prognosi dell'individuo affetto[25].

3.7 Diagnosi

La diagnosi è spesso ritardata o mancata a causa della limitata specificità dell'ecocardiografia e del tradizionale requisito della conferma istologica. La scintigrafia ossea consente di formulare in modo affidabile la diagnosi di amiloidosi ATTR cardiaca senza necessità di esame istologico in pazienti che non presentano una

gammopatia monoclonale. Proponiamo criteri diagnostici non invasivi per l'amiloidosi cardiaca ATTR che sono applicabili alla maggior parte dei pazienti con



questa malattia.[40]

Al fine di porre diagnosi nel minor tempo possibile e con un'accuratezza adeguata, sia per la possibilità di agire tempestivamente, sia per l'identificazione della malattia qualora si tratti di ATTR-AC su base genetica, l'European Society of Cardiology ha stilato un diagramma diagnostico secondo cui si deve porre sospetto di amiloidosi cardiaca qualora sia presente uno spessore del setto ≥ 12 mm associato ad uno o più dei segni caratteristici di infiltrazione amiloidotica.

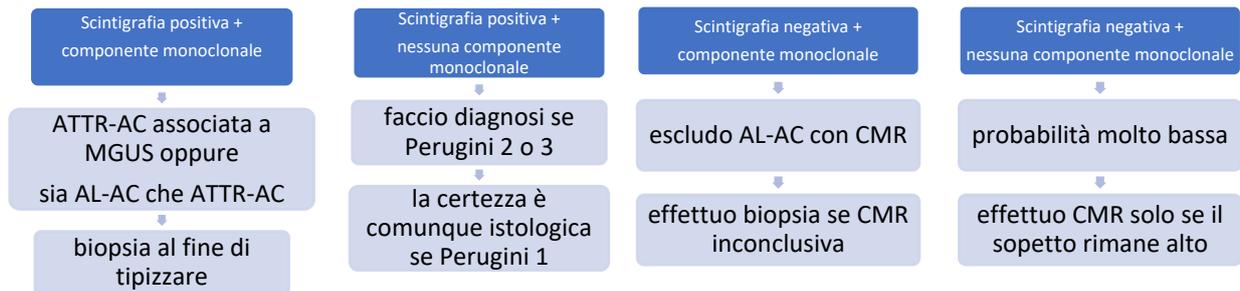
Fondamentale è la presentazione clinica con sintomi cardine di insufficienza cardiaca. I pazienti lamentano talvolta dispnea da sforzo vertigini e sincope. Edema, versamenti pleurici, aumento delle aritmie e riduzione della riserva di flusso coronarico.

L'età media alla diagnosi è di circa 60 anni. Nel caso dell'amiloidosi sistemica, spesso ci sono anche manifestazioni extracardiache soprattutto a livello neurologico[41].

Figura 12: diagramma di sospetto diagnostico di amiloidosi (Fonte: European Journal of Cardiology)

Il primo esame cardine è l'ECG, tramite cui andiamo a valutare la presenza di bassi voltaggi, a cui seguiranno le indagini strumentali viste precedentemente. Molto importante è la discriminazione tra la forma AL-AC e ATTRv o ATTRwt; questa differenziazione viene eseguita tramite due strumenti diagnostici indicativi:

- Score di Perugini alla scintigrafia ossea
- Ricerca di componente monoclonale



Grazie a questo algoritmo è chiaro che gli strumenti diagnostici sono il risultato della sommatoria di tecniche invasive (biopsia) e tecniche non invasive (CRM), seppur sapendo che la negatività a tutti i test per la ricerca della componente monoclonale ha una sensibilità del 100% nell'escludere una discrasia plasmacellulare e di conseguenza una AL-AC [42].

Criteri diagnostici invasivi → L'amiloidosi cardiaca è confermata quando una biopsia endomiocardica mostra depositi di amiloide dopo la colorazione Congo rosso, indipendentemente dal grado di spessore della parete del ventricolo sinistro (LV). L'identificazione dell'amiloide dovrebbe essere seguita dalla classificazione della proteina della fibrilla amiloide.

Criteri diagnostici non invasivi → L'amiloidosi cardiaca da ATTR può essere diagnosticata in assenza di istologia nel contesto dei tipici risultati ecocardiografici/CMR quando ^{99m}Tc-pirofosfato (PYP), ^{99m}Tc-3,3-difosfono-1,2-acido propanodicarbossilico (DPD) o ^{99m}Tc-la scintigrafia con idrossimetilen difosfonato (HMDP) mostra una captazione miocardica di Grado 2 o 3 del

radiotracciante secondo la scala Perugini, escludendo la discrasia clonale da tutti i test.

La diagnosi di amiloidosi cardiaca comprende quindi due fasi critiche: (i) *fase sospetta* e (ii) *fase di diagnosi certa*. L'ultima fase include anche un'appropriate tipizzazione dell'amiloide, che è fondamentale per guidare il trattamento specifico [43].

3.8 Prognosi

La storia naturale di ogni sottotipo di amiloidosi cardiaca è diversa e i vari meccanismi patofisiologici responsabili del danno cardiaco conducono ognuno ad un diverso outcome.

Un declino funzionale rapido e progressivo dell'AL-AC è causato sia dalla malattia ematologica sottostante che dalla tossicità diretta dei cardiomiociti causata dalle catene leggere libere amiloidogeniche. Al contrario, l'ATTR-AC progredisce lentamente e insidiosamente, e i sintomi gravi iniziano anni dopo le prime manifestazioni cliniche[44].

- AL-AC: I pazienti che ricevono una diagnosi di amiloidosi AL prima della progressione della cardiomiopatia avanzata possono ottenere risposte ematologiche e organiche dopo la chemioterapia, il che consente una sopravvivenza prolungata. Una risposta ematologica significativa è il miglior indicatore della risposta sistemica. Dal punto di vista del trattamento tempestivo i pazienti devono essere trattati con daratumumab, bortezomib, ciclofosfamide e desametasone, se l'amiloidosi da catene leggere è stata confermata come causa [45].
- ATTR-AC: oggi abbiamo la possibilità di utilizzare terapie farmacologiche mirate a colpire diversi bersagli lungo il processo di formazione delle fibrille amiloidi, una terapia "multi-target", che ha aumentato notevolmente le

nostre capacità terapeutiche e rende ancora più importante una diagnosi precoce[46].

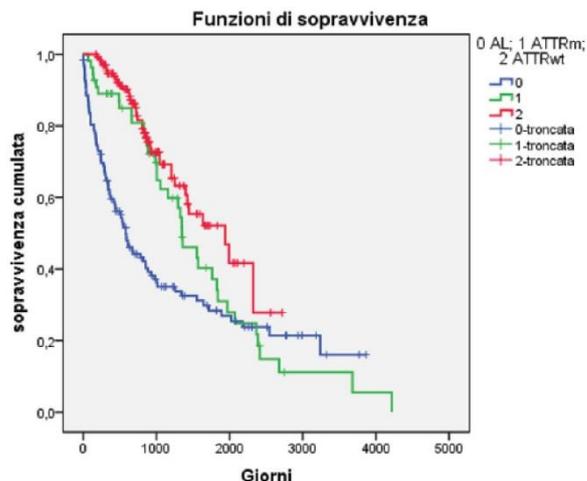


Figura 13: Curve di sopravvivenza (Kaplan-Meier) di pazienti con amiloidosi da TTR (mutata, n=55; wt, n=129) vs pazienti con amiloidosi AL (n=123) reclutati presso il Centro di Riferimento Toscano per le Amiloidosi.

3.9 Trattamento

Il trattamento dell'amiloidosi è una sfida vera e propria che vede come protagonisti varie categorie di farmaci ed indubbiamente è coadiuvata da una diagnosi quanto più precoce, al fine di essere il più funzionale possibile.

Due sono gli obiettivi primari del trattamento della cardiomiopatia amiloidotica:

- ✓ Ridurre la produzione e l'accumulo di amiloide attraverso una terapia eziologica, che nella chemioterapia per l'amiloidosi AL e nelle terapie modificanti la malattia per ATTRAC;
- ✓ Curare il coinvolgimento cardiaco, che è il principale fattore di previsione per il paziente sia nella forma AL che ATTR.

Trattamento dello scompenso cardiaco: i pazienti con AC hanno spesso un quadro di scompenso cardiaco a preservata frazione di eiezione (pEF). Il trattamento di questo tipo di scompenso differisce da quello raccomandato per i pazienti con scompenso cardiaco di altre cause perché le alterazioni fisiopatologiche causate dai depositi di

amiloide nel cuore e in altri distretti del corpo richiedono modifiche alla terapia. L'amiloide si infiltra e deposita in modo cronico nello spazio extracellulare, danneggiando sia il miocardio contrattile che il miocardio di conduzione, causando un ispessimento ed una riduzione della distensione delle pareti cardiache, l'insorgenza di aritmie, soprattutto atriali, e di blocchi del sistema di conduzione. Tutto questo determina una difficile capacità del cuore a adattarsi alle variazioni di volume.

Attualmente la terapia medica per lo scompenso cardiaco consta di più fronti e molti strumenti sia comportamentali che farmacologici, che risultano complementari tra loro, quali:

- Adeguata restrizione idrica, dieta iposodica per evitare il sovraccarico emodinamico e regime dietetico accurato[47]
- Un utilizzo appropriato dei diuretici per ridurre la congestione polmonare e periferica: i diuretici dell'ansa sono i più utilizzati, migliorano la sintomatologia nonostante possano peggiorare la funzionalità renale e la perfusione sistemica, questo perché nei pazienti con cardiomiopatia restrittiva avanzata, ridurre il precarico determina una riduzione della gittata cardiaca dato che lo *stroke volume* è fisso.

Nei pazienti con buona pressione arteriosa e funzionalità renale, ai diuretici d'ansa se ne possono associare altri al fine di portare ad un blocco sequenziale del nefrone nonché associare gli antagonisti del recettore dell'aldosterone, utili per la loro azione anti-fibrotica cruciale per contrastare il rimodellamento cardiaco[48];

- Nei pazienti con cardiomiopatie restrittive, i beta-bloccanti sono poco tollerati perché nella AC, la gittata cardiaca varia solo in base alla frequenza cardiaca a causa dello *stroke volumetrico* fisso. Inoltre, questi farmaci possono causare sincope, astenia e peggiorare la bradicardia e i blocchi del sistema di conduzione.

- L'ipotensione ortostatica, che è abbastanza comune in presenza di neuropatia autonoma: Una terapia con vasocostrittori periferici come la Midrodina potrebbe essere vantaggiosa per questi pazienti[48];
- Per i loro effetti inotropi, cronotropi e dromotropi negativi, i calcio-antagonisti non diidropiridinici non sono raccomandati; in particolare Verapamil ha la capacità di legare fibrille amiloidi, aumentando la tossicità cardiaca e peggiorando la situazione di scompenso cardiaco[49];
- La Digossina, un tempo controindicata per dati a supporto circa la sua capacità di legarsi alle fibrille amiloide, può essere utilizzata con cautela a basso dosaggio, monitorando frequentemente la digossinemia, la funzionalità renale e la concentrazione elettrolitica[50];
- In accordo con quanto riportato dalla Società Internazionale per il trapianto cuore-polmone, il trapianto cardiaco può essere considerato nei pazienti con scompenso cardiaco stadio D, nei pazienti con amiloidosi AL che non sono candidati a terapie specifiche per la patologia a causa della grave compromissione cardiaca e nei pazienti con ATTRv, associandolo eventualmente al trapianto epatico[51];
- L'uso dell'LVAD può essere una valida alternativa per i pazienti con scompenso cardiaco avanzato e si è dimostrato di efficacia prognostica pari a quella osservata in pazienti impiantati con LVAD per cardiopatie restrittive non amiloidotiche[49].

Trattamento delle aritmie: L'amiloidosi cardiaca porta ad una progressiva disfunzione atriale causata sia dall'aumento delle pressioni intracavitarie, a causa della disfunzione diastolica del ventricolo sinistro, sia dall'accumulo di fibrille amiloide a

livello interstiziale. Tutto questo porta ad una dilatazione atriale e ad una rigidità delle pareti, con rischio di formazione di trombi e disfunzione del tessuto di conduzione cardiaco con maggiore rischio di insorgenza di aritmie.

La gestione del ritmo e della frequenza in pazienti con AC è spesso difficile: il farmaco di scelta è l'Amiodarone[52].

La disfunzione meccanica atriale può essere valutata mediante il doppler tissutale, in grado di dimostrare una riduzione dell'ampiezza dell'onda A trans mitralica e una riduzione della velocità nell'auricola atriale sinistra. In questi casi si consiglia di iniziare una terapia anticoagulante anche se il paziente è ancora in ritmo sinusale, visto l'alto rischio tromboembolico [53].

Come terapia anticoagulante, si possono somministrare sia DOAC che antagonisti della vitamina K perché nessuno studio ha dimostrato la superiorità di uno rispetto all'altro e devono essere iniziati in pazienti con FA o flutter a prescindere dal risultato dello score CHA2DS2-VASc.

La cardioversione elettrica può essere considerata in casi selezionati, tenendo conto che diversi studi hanno dimostrato un elevato tasso di recidive post procedurali[54]. Quando si sceglie una cardioversione elettrica, indipendentemente dalla data di inizio della FA e anche nei pazienti in terapia anticoagulante, è necessario eseguire una ecografia trans esofagea per assicurarsi che non ci siano trombi endocavitari.

Per quanto concerne le aritmie ventricolari, l'uso dell'ICD è raccomandato in prevenzione secondaria nei pazienti che abbiano già avuto un arresto cardiaco resuscitato, con un'aspettativa di vita superiore a un anno o che presentino aritmie ventricolari sostenute[55].

L'ICD in prevenzione primaria non è ad oggi raccomandato.

Treatment of Cardiac Complications and Comorbidities in Cardiac Amyloidosis		
Aortic Stenosis <ul style="list-style-type: none"> Severe AS confers worse prognosis. Concomitant ATTRwt risk factor for periprocedural AV block. TAVR improves outcome in amyloid-AS. 	Thromboembolism <ul style="list-style-type: none"> High risk, common. Anticoagulate if AF, consider in selected cases in SR. Anticoagulate independent of CHADS-VASC score. 	Conduction disorders <ul style="list-style-type: none"> PPM according to standard indications. Consider CRT if high paced burden expected.
Heart failure <ul style="list-style-type: none"> Control fluid. Diuretics. Deprescribe B-Blockers. Avoid ACEI/ARB. LVAD not suitable for most patients. Heart transplant for selected cases. 	Atrial Fibrillation <ul style="list-style-type: none"> Amiodarone, preferred AA. Use digoxin cautiously. Electrical CV has significant risk of complications and AF recurrence is frequent. Exclude thrombi before electrical CV. AF ablation data scarce and controversial. 	Ventricular arrhythmias <ul style="list-style-type: none"> ICD for secondary prevention. ICD in primary prevention usually not recommended. Transvenous ICD preferred over subcutaneous ICD.

Figura 14: trattamento di complicanze e comorbidità dell'AC (Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis Gracia, Pavia et al. -2021)

Terapia modificante la malattia: Le terapie modificanti la malattia che possono essere utilizzate nei pazienti con ATTR-AC includono silenziatori del gene della TTR, stabilizzatori del tetramero di TTR e molecole che possono degradare e riassorbire le fibrille amiloidi.

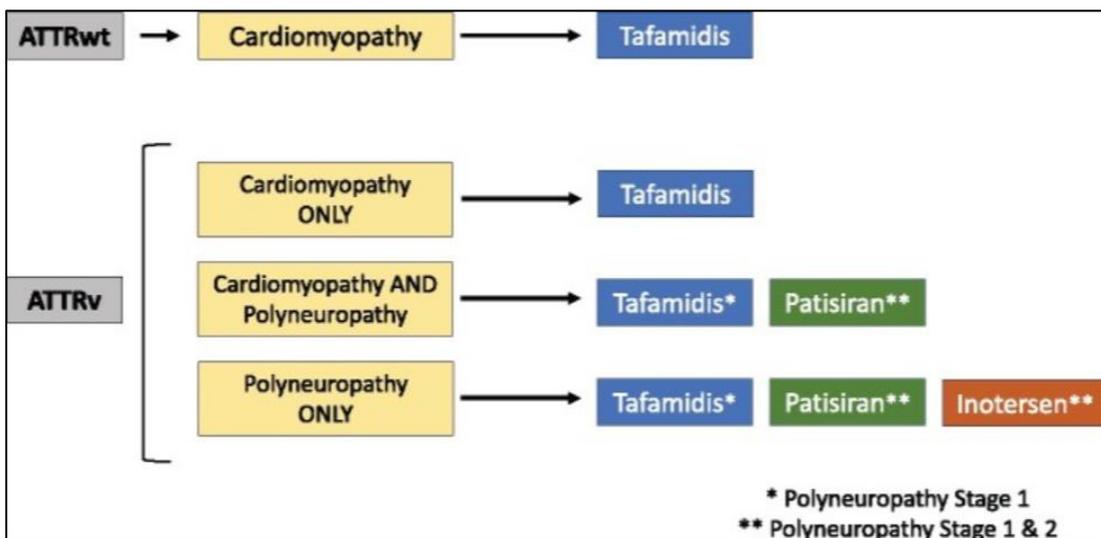


Figura 15: proposte di alternative terapeutiche per ATTRwt-AC e ATTRv-AC (Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis, Garcia, Pavia et al. - 2021)

- Silenziatori del gene della TTR: agiscono inibendo l'espressione genica della TTR e quindi la sintesi epatica della molecola. Ad oggi, solo due farmaci sono stati approvati: *Patisiran*, siRNA somministrato per via endovenosa al dosaggio di 0.3 mg/kg ogni 3 settimane, e in grado di degradare l'mRNA della TTR e *Inotersen*, oligonucleotide antisenso a singolo filamento somministrato settimanalmente per via sottocutanea al dosaggio di 284 mg. Lega l'mRNA che codifica per la TTR inducendone la degradazione. Due trial randomizzati sono stati realizzati per studiare l'efficacia di questi farmaci in pazienti con ATTRv e polineuropatia: *Patisiran* è stato studiato nell'APOLLO TRAIL, *Inotersen* nel NEURO-TTR ed entrambi i farmaci hanno dimostrato la capacità di rallentare la progressione della polineuropatia e di ridurre la concentrazione di TTR circolante (circa dell'80%)[56] [57].
- Stabilizzatori del tetramero di TTR: agiscono legando i tetrameri di TTR prevenendone la disaggregazione in oligomeri, monomeri e la loro conseguente aggregazione in fibrille amiloide. L'unico farmaco ad oggi disponibile per la ATTR-AC è il *tafamidis* che stabilizza il tetramero di TTR legandosi al sito di legame per la tiroxina. Esso è stato associato a riduzioni della mortalità per tutte le cause e dei ricoveri cardiovascolari e ha ridotto il declino della capacità funzionale e della qualità della vita rispetto al placebo [58].
- Molecole in grado di degradare le fibrille di amiloide: sono farmaci che hanno come target l'eliminazione e degradazione delle fibrille amiloidi dai tessuti. Per ora si hanno solo a disposizione studi preclinici sulla Doxyciclina associata al TUDCA (acido tauroursodesossicolico). La Doxyciclina si è dimostrata utile nel degradare le fibrille di amiloide in vitro producendo molecole non tossiche[59]

Dopo molti anni di trattamento empirico, la terapia dei pazienti con amiloidosi AL è ora entrata nel regno della medicina basata sull'evidenza. Tuttavia, le nostre conoscenze basate sull'evidenza coprono solo una piccola parte della gestione dei

pazienti con amiloidosi AL. Le combinazioni di daratumumab-bortezomib possono essere utilizzate come terapia di prima linea in quasi tutti. Tuttavia, questioni importanti, come il miglior trattamento in caso di recidiva, il ruolo del mantenimento e l'approccio più conveniente nei pazienti con anomalie cromosomiche specifiche devono ancora trovare risposta in studi controllati. Per questi motivi, i pazienti dovrebbero comunque essere indirizzati a centri specializzati e trattati nell'ambito di studi clinici quando possibile. Con un armamentario terapeutico in crescita, la sopravvivenza è più che triplicata; tuttavia, non è stato fatto alcun progresso nei pazienti con stadio IIIb.

La terapia diretta contro l'amiloide è un'interessante opportunità per accelerare il recupero della funzione degli organi, in particolare in questi pazienti. Stanno emergendo nuove terapie e sono in corso di reclutamento più di 20 studi interventistici. Si spera che le immunoterapie promettenti nel MM saranno offerte ai pazienti con amiloidosi AL. L'anticorpo anti-CD38 *isatuximab* ha mostrato risultati incoraggianti. Infine, i continui e stimolanti progressi nella ricerca di base e traslazionale stanno offrendo nuove intuizioni sui meccanismi della malattia, e c'è la speranza che alla fine vengano resi disponibili nuovi obiettivi terapeutici[60].

Daratumumab è un anticorpo monoclonale anti-CD38 studiato in un trial clinico di fase II in pazienti con amiloidosi AL refrattaria alla terapia di base o con recidive; e in corso un trial clinico di fase III ANDROMEDA con lo scopo di valutare l'efficacia di Daratumumab in combinazione allo schema CyBorD nei pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AL[61].

4. Lo studio

L'ecocardiografia è di solito il primo test eseguito in pazienti che presentano insufficienza cardiaca, data la sua economicità, non invasività e facilità di esecuzione. Essa è uno strumento estremamente utile ed efficace per analizzare la geometria delle pareti cardiache, il loro spessore e la variazione della direzione e dell'intensità dei flussi che attraversano le valvole cardiache.

Tuttavia, in particolare nelle prime fasi della malattia, l'ecocardiografia manca di specificità, e diventa difficile distinguere cardiopatie restrittive da infiltrazione amiloide da altre cardiopatie restrittive o ipertrofiche[45].

Essendo quindi molto importante la diagnosi precoce nella cardiopatia amiloide, al fine di fornire un'aspettativa di vita più lunga al paziente ed uno stato clinico quanto più ottimale, si sta cercando il modo di diagnosticare la malattia anche con metodiche meno invasive come l'ecocardiografia.

4.1. Obiettivi

Tra gli indizi cardine che l'ecocardiografia fornisce riguardo alle immagini di cuori affetti da cardiopatia amiloide, la caratteristica del "granular sparkling" è ben evidente e spesso riscontrata in pazienti affetti da ATTR-AC.

Tuttavia, non esiste una tecnica oggettiva per descrivere e quantificare questa caratteristica, che rimane quindi un dato di imaging qualitativo, sfuggente e in definitiva inaffidabile. Nello studio si cerca quindi di quantificare il fenomeno, finora noto qualitativamente, del granular sparkling.

Nella pratica, "quantificare" significa trovare una maniera matematica di esprimere questa caratteristica con uno o più indici numerici. Siccome il "granular sparkling" si associa tipicamente all'amiloidosi (e ad una prognosi tanto peggiore quanto più questa caratteristica è evidente), l'idea è quella di confrontare i valori di questi indici numerici per il gruppo dei sani con i valori per il gruppo dei malati al fine di vedere se effettivamente c'è una differenza statisticamente significativa; fare lo stesso

all'interno del gruppo dei malati stratificandoli per prognosi. Gli indici che calcoliamo sono delle caratteristiche della texture (features radiomiche) e della morfologia (granulometria) del tessuto.

- Il *primo obiettivo* di questo studio è quindi quantificare la texture del “granular sparkling” miocardico in pazienti con amiloidosi cardiaca correlata alla transtiretina rispetto ai controlli sani.
- Il secondo obiettivo è valutare le differenze quantitative o geometriche del tessuto miocardico all'interno della popolazione di pazienti ed analizzare la loro associazione con le caratteristiche cliniche e la prognosi.

4.2. Dati

Il nostro studio ha previsto la raccolta delle immagini ecocardiografiche di 58 pazienti affetti da amiloidosi cardiaca da transtiretina wild-type seguiti presso l'Ambulatorio Cardiomiopatie dell'Ospedale Policlinico San Martino. Per l'analisi preliminare abbiamo utilizzato un gruppo di controllo di 64 soggetti abbinati per età e sesso senza alcuna malattia cardiaca nota ad eccezione dell'ipertensione.

Della popolazione in esame due pazienti e due soggetti del gruppo di controllo sono stati scartati poiché non sono state trovate informazioni sulla dimensione dei pixel nella proiezione ecocardiografica a 4 camere (4CH), ottenendo così le immagini di 60 pazienti affetti da CA e di un gruppo di controllo formato da 66 soggetti.

Sono state raccolte le seguenti quattro immagini ecocardiografiche durante la sistole e la diastole del ventricolo sinistro per ciascun paziente:

- un fotogramma in telediastole in asse lungo parasternale (ED-PLAX)
- un fotogramma in telesistole in asse lungo parasternale (ES-PLAX),
- un fotogramma in telediastole in vista apicale a 4 camere (ED-4CH),
- un fotogramma in telesistole in vista apicale a 4 camere (ES-4CH).



Figura 16: 4CH telediastole

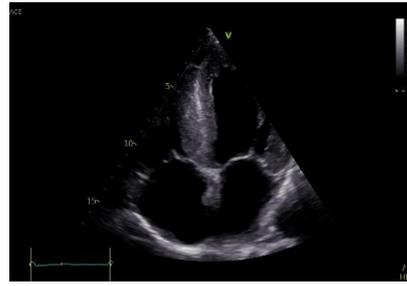


Figura 17: 4CH telesistole



Figura 18: PLAX telediastole



Figura 19: PLAX telesistole

Le immagini sono state estratte dai video-clip dell'ecocardiogramma (formato .avi) e salvate in formato PNG. In seguito per ogni immagine sono stata disegnate due regione di interesse (ROI), una a livello del setto interventricolare e una a livello della cavità ventricolare. Sulla prima analizzeremo le caratteristiche dei granuli e pixel, la seconda invece decreterà la scala di grigi che verrà considerata come riferimento.

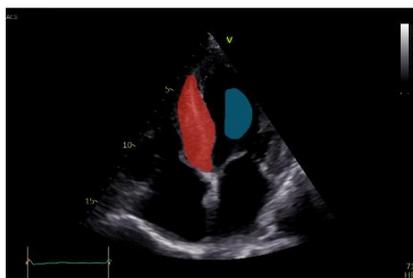


Figura 20: ROI in 4CH telediastole

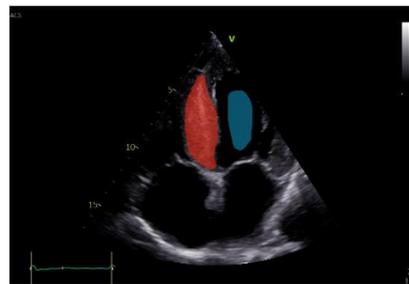


Figura 21: ROI in 4CH telesistole



Figura 22: ROI in PLAX telediastole



Figura 23: ROI in PLAX telesistole

Tale processo è stato eseguito da un esperto utilizzando il software “Label Studio”, uno strumento di etichettatura dei dati open source, vediamo quindi il setto interventricolare (SIV) contenente una circoscrizione rossa e la camera ventricolare sinistra contenente una circoscrizione blu.

4.3. Strumenti

Queste ROI sono state estratte e la loro texture è stata analizzata utilizzando strumenti di radiomica e di morfologia matematica. Piuttosto che concentrarsi sui valori di luminosità, l'analisi si è concentrata sulla descrizione delle relazioni spaziali tra i pixel dell'immagine, identificando possibilmente pattern di granularità specifici dell'amiloidosi cardiaca.

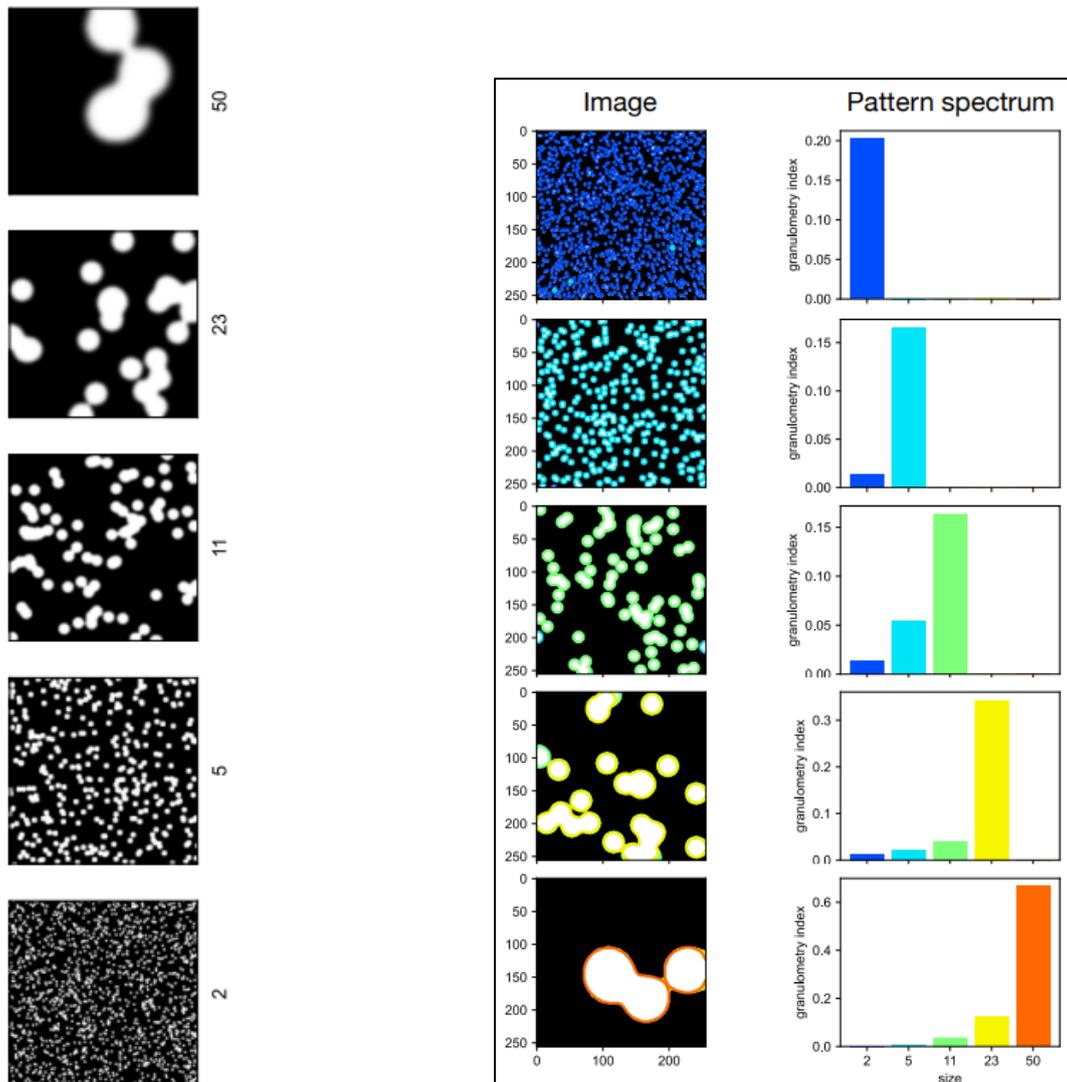
4.3.1. Granulometria

Per granulometria si intende nell'ambito della morfologia matematica un approccio al calcolo della distribuzione dei grani in immagini binarie. La granulometria formalizza la nozione geometrica intuitiva di un processo di setacciatura. Inizialmente era orientata ad estrarre la distribuzione delle dimensioni dalle immagini binarie ed è stata estesa agli operatori di funzione matematica per analizzare ed estrarre le caratteristiche della trama nelle immagini in scala di grigi.

Utilizzando un'immagine esempio composta da granuli di diverse dimensioni si può creare un “pattern spectrum” ovvero un istogramma dove nell'asse Y è presente l'indice di granularità ed in asse X la dimensione dei granuli; il picco corrisponde alla dimensione dei granuli più presente nell'immagine. In immagini con diverse

dimensioni dei granuli che si ripetono più frequentemente saranno presenti più picchi.

Figura 24: grandezza dei granuli



Il “pattern spectrum” è indipendente dalla dimensione della maschera, ovvero sia che venga presa una maschera di maggiori dimensioni, sia che venga presa una maschera di minori dimensioni, il pattern di frequenza con la quale sono presenti i granuli rimane invariato.

4.3.2. Radiomica

Storicamente, l'imaging medico è stata una modalità qualitativa o semi-quantitativa. È difficile quantificare ciò che si può vedere in un'immagine e trasformarlo in preziosi risultati predittivi, ma nella nuova era della medicina di precisione, la *radiomica* è un campo di ricerca traslazionale emergente che mira a estrarre dati altamente dimensionali dalle immagini cliniche.

Il processo radiomico può essere suddiviso in fasi distinte con input e output definibili, come l'acquisizione e la ricostruzione dell'immagine, la segmentazione dell'immagine, l'estrazione e la qualificazione delle caratteristiche, l'analisi e la costruzione del modello[63]. La radiomica comporta la gestione delle immagini mediche digitali sotto forma di grandi matrici di dati con lo scopo di estrarre un elevato numero di caratteristiche morfologiche e predittive mediante algoritmi e metodi più o meno automatici. Queste caratteristiche morfologiche e predittive possono essere suddivise in diversi gruppi: dimensioni e caratteristiche basate sulla morfologia, descrittori delle relazioni tra i pixel o voxel che compongono l'immagine. Le definizioni matematiche di queste relazioni, chiamate "descrittori", sono indipendenti dalla modalità di imaging, e mostrano come i valori numerici presenti all'interno delle immagini siano distribuiti spazialmente all'interno del tessuto studiato. Questo tipo di analisi è perciò spesso anche denominata analisi della tessitura o "*texture analysis*".

La limitazione principale della radiomica è che le tecniche di imaging clinico di routine mostrano un'ampia variazione nei parametri di acquisizione, quali: risoluzione spaziale dell'immagine; somministrazione di agenti di contrasto. Nonostante i risultati promettenti nella ricerca, tali applicazioni della radiomica richiedono ancora una profonda esplorazione, perfezionamento, standardizzazione e convalida per ottenere un'adozione clinica di routine, ma potrebbero essere di grande aiuto nella gestione clinica di malattie specifiche nel prossimo futuro[64].

I descrittori delle texture possono essere calcolati a partire dai valori *nativi* delle immagini. In tali casi si parla di *texture di primo ordine*. Descrittori che invece analizzano i rapporti fra due o più pixel/voxel dell'immagine sono definiti di *secondo, terzo* o di ordini superiori a seconda del numero di elementi presi in considerazione[65]. Nel nostro studio la struttura della ROI è stata analizzata utilizzando classi di caratteristiche radiomiche di *secondo ordine*:

- **Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM)**: descrive la frequenza con cui due valori si verificano insieme nei pixel vicini.
- **Gray Level Run Length Matrix (GLRLM)**: descrive la frequenza con cui un valore di grigio forma una linea di una certa lunghezza.
- **Gray Level Size Zone Matrix (GLSZM)**: descrive la frequenza con cui un valore di grigio forma una "zona" di pixel collegati.
- **Gray Level Dependence Matrix (GLDM)**: quantifica le dipendenze del livello di grigio in un'immagine (dipendenza = pixel con valori "simili").
- **Neighboring Gray Tone Difference Matrix (NGTDM)**: quantifica la differenza tra un valore di grigio e il grigio medio valore dei suoi vicini.

Non sono state utilizzate statistiche di *primo ordine*, le quali descrivono la distribuzione delle intensità dei pixel attraverso metriche di base (ad esempio: media, mediana, min/max..) né *shape-based*, ovvero descrittori della grandezza bidimensionale e della forma della ROI (ad esempio: area, perimetro...).

Al contrario della granulometria, alcune caratteristiche radiomiche non sono indipendenti rispetto alla grandezza della maschera, mentre dal punto di vista della relazione con le dimensioni dei granuli alcune caratteristiche radiomiche possono correlare con la dimensione dei granuli nell'esempio, ma non sono una diretta misurazione della loro dimensione poiché potrebbero anche dipendere da altre proprietà della texture.

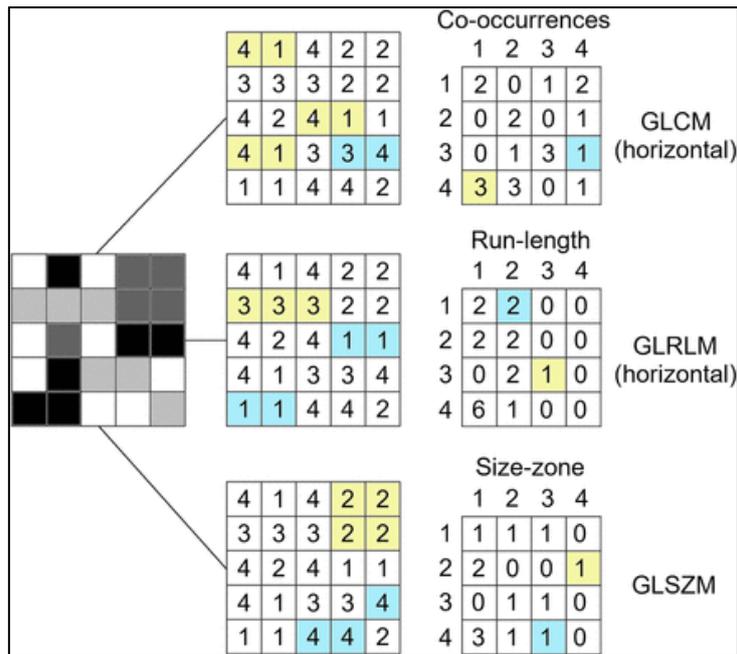


Figura 25: caratteristiche radiomiche (Introduction to radiomics Marius E. et al.)

4.4. Analisi

Il modello utilizzato per effettuare le analisi è la regressione logistica, ovvero un algoritmo di classificazione il cui scopo è predire se un soggetto è sano o malato a partire dagli indici che sono stati utilizzati. Lo scopo della regressione logistica è determinare la probabilità del verificarsi di un evento, dati determinati fattori di rischio, per poter implementare una regressione logistica è necessario identificare una variabile dipendente (outcome) ed una o più variabili indipendenti, i cosiddetti regressori o fattori esogeni[66].

Le caratteristiche radiomiche e di morfologia matematica vengono quindi considerate come variabili indipendenti, mentre il gruppo (casi, controllo) viene considerato come variabile dipendente.

Al fine di ottenere un'analisi più imparziale, dettagliata e precisa sono state adottate delle tecniche di normalizzazione di alcuni parametri, ovvero:

- Normalizzazione del "gain" (guadagno, brillantezza del colore nero), essendo un parametro che inficia sulla scala di grigi. Utilizzando come riferimento la ROI estratta dal ventricolo sinistro.
- Ridimensionamento in modo da equalizzare la misura in cm di ciascun pixel.

L'analisi granulometrica è stata effettuata sull'intera maschera poiché, come detto in precedenza, essa non dipende dalla grandezza della maschera, mentre invece la radiomica sì; quindi, si è deciso di analizzare una media di cinque maschere di dimensioni diverse e casuali, per avere più eterogeneità di giudizio possibile.

Piuttosto che concentrarsi sui valori di luminosità, l'analisi si è concentrata sulla descrizione delle relazioni spaziali tra i pixel dell'immagine, identificando possibilmente pattern di granularità specifici dell'amiloidosi cardiaca.

4.5. Risultati

L'accuratezza dell'algorithmo di regressione logistica evidenzia quanto è forte la relazione tra le caratteristiche del tessuto e la diagnosi (i risultati vengono espressi in

percentuali, dove valore del 50% corrisponde a nessuna relazione, mentre il valore del 100% corrisponde alla massima relazione, sebbene l'accuratezza del 100% è impossibile che si verifichi in medicina). Quelli che sono rappresentati nella tabella 25 sono proprio i valori di accuratezza, ottenuti con diverse opzioni quali:

- Features utilizzate (texture, granulometria)
- Proiezioni ecocardiografiche (4CH, PLAX)

Nell'ultima riga della tabella sono rappresentati i valori di accuratezza ottenuti anche includendo delle variabili di prim'ordine ("shape") descrittive della forma della ROI, che chiaramente aggiungono informazioni, ed infatti portano a una performance più alta.

Nella finestra ecografica 4 camere (4CH) abbiamo un'accuratezza del 65% per quanto riguarda la texture mentre l'accuratezza è del 68% nella finestra parasternale asse corto (PLAX), per quanto riguarda la granulometria invece l'accuratezza è del 52% nella proiezione PLAX e del 63% in 4CH. Combinando granulometria e texture l'accuratezza sale al 67% nella proiezione 4CH ed al 71% nella proiezione PLAX. Considerando anche la shape, caratteristica radiomica, insieme a granulometria e texture l'accuratezza sarebbe appunto stata molto alta, ovvero del 85% nella finestra PLAX e del 93% nella finestra 4CH.

		view	
		PLAX	4CH
features	texture	68%	65%
	granulometry	52%	63%
	texture, granulometry	67%	71%
	shape, texture, granulometry	85%	93%

Figura 26: accuratezza ottenuta

Risulta una correlazione tra la dimensione dei granuli nel "granular sparkling" e la presenza della malattia, tale per cui granuli di dimensioni minori sono più frequentemente presenti in individui affetti (casi), mentre granuli di dimensioni maggiori sono più frequentemente presenti in individui sani (controlli).

Si può calcolare quindi l'indice di granulometria utilizzando le variabili di radiomica che analizzano la texture indipendentemente dalla dimensione del campione considerato.

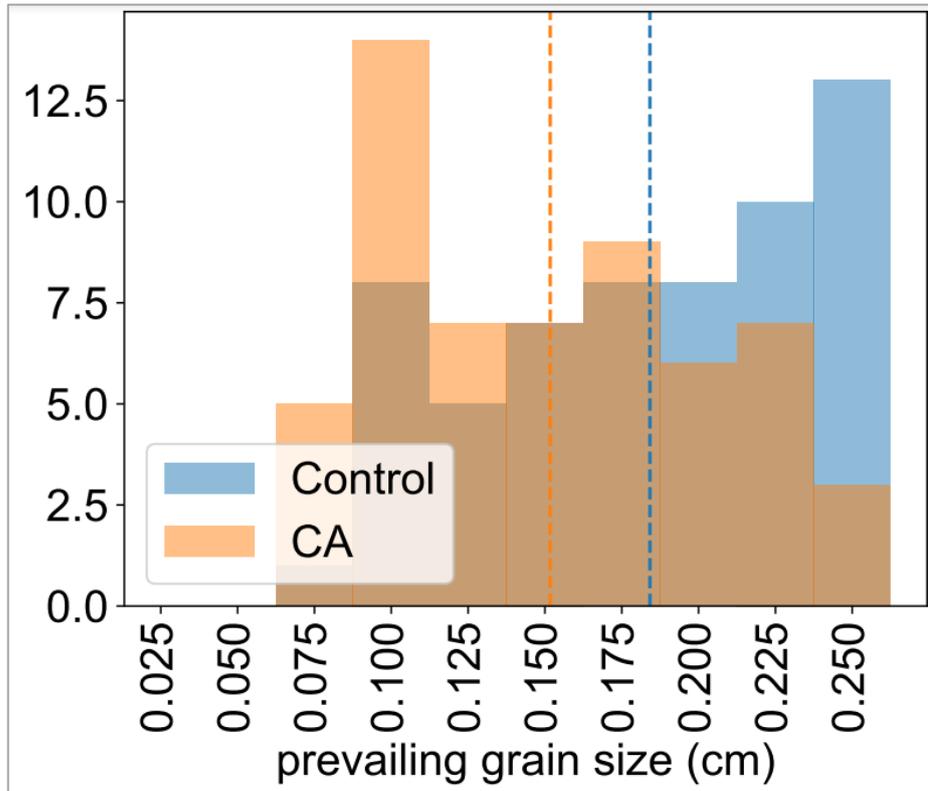
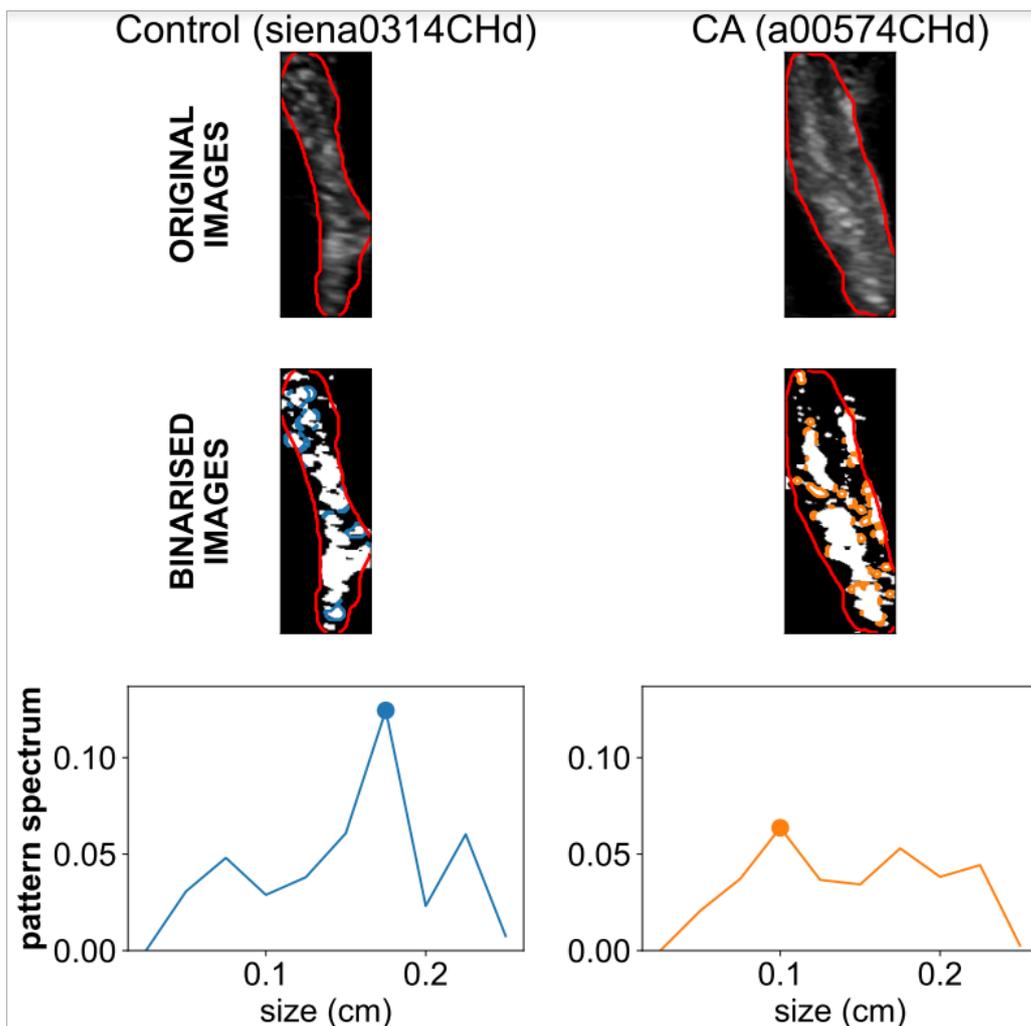


Figura 27: istogramma rappresentate la relazione tra grandezza dei granuli e soggetti



La stessa analisi radiomica e granulometrica della texture del miocardio è stata applicata nel gruppo dei soggetti affetti da malattia per indagare la presenza di una correlazione con dati clinici e laboratoristici indicatori di uno stato peggiore di malattia.

Abbiamo così ottenuto dei trend che rispecchiano la relazione tra alcuni parametri caratterizzanti la prognosi (eGFR, ntPRO-BNP, creatinina, classe NYHA, furosemide assunta) e la grandezza dei granuli.

Per alcune delle variabili considerate è stato evidenziato un trend di correlazione tra malattia più avanzata e dimensione dei granuli minore, non è stata tuttavia raggiunta la significatività statistica ($p < 0.05$).

In particolare, come mostrato nel grafico, per quanto riguarda il NT-proBNP (marcatore aspecifico di scompenso cardiaco) $p=0.0867$, ed è la più vicina al valore di significatività statistica. Per le altre variabili analizzate abbiamo ottenuto $p=0.1027$ per la classe NYHA, $p=0.3211$ per eGFR, $p=0.2462$ per la dose assunta in mg/die di Furosemide e $p=0.6143$ per la creatinina.

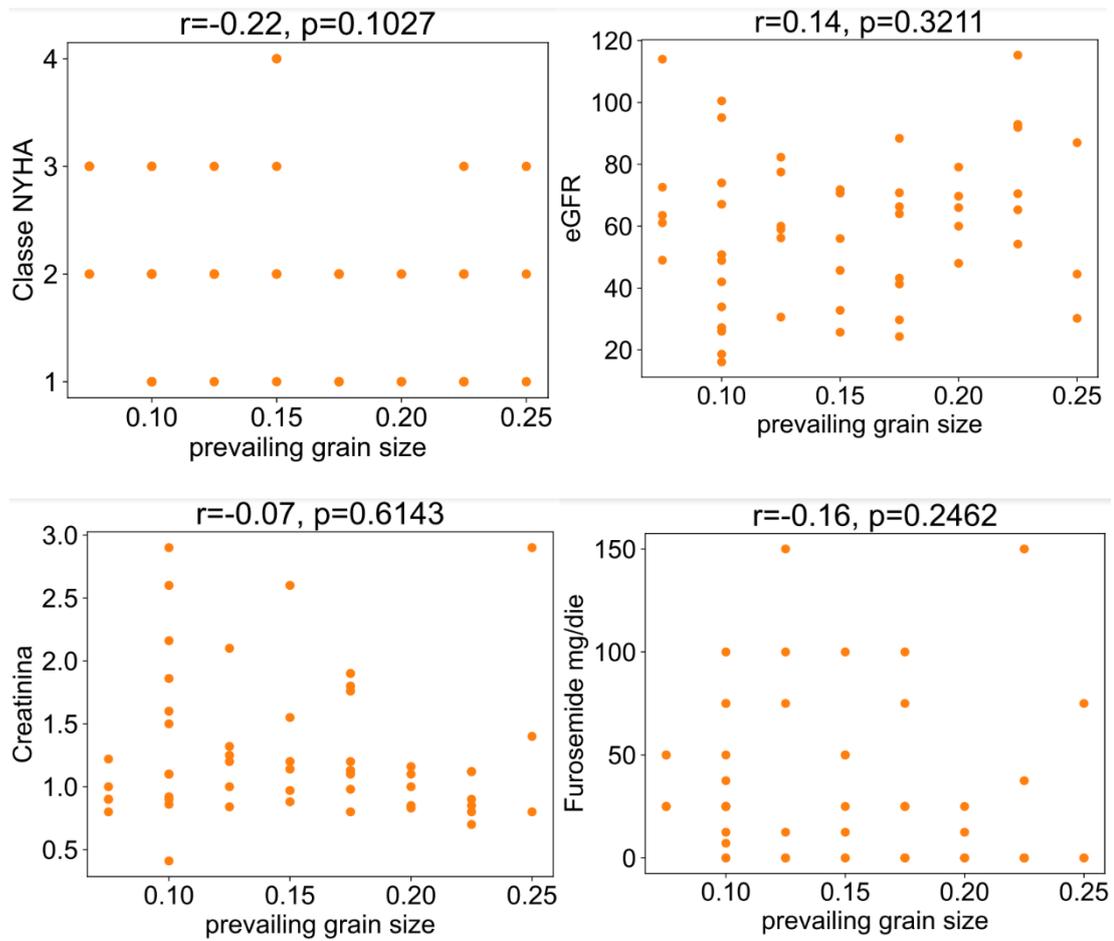


Figura 28: grafici a dispersione non significativi

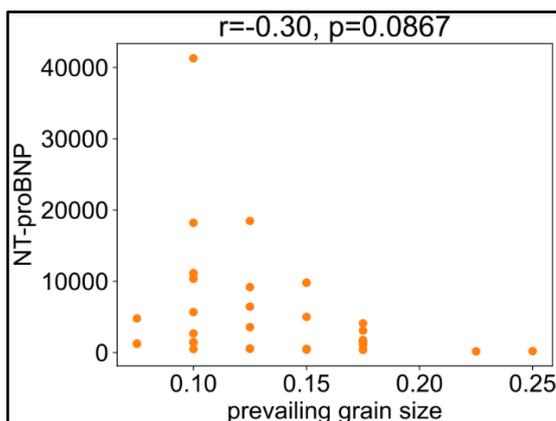


Figura 29: grafico pro-BNP si avvicina a $p < 0.05$

5. Conclusioni

Dalle analisi effettuate sulle caratteristiche radiomiche e granulometriche del tessuto miocardio nelle immagini ecocardiografiche è possibile distinguere i soggetti affetti da amiloidosi cardiaca ATTRwt dai soggetti sani con una accuratezza diagnostica del 71%.

Tale risultato potrebbe portare ad un miglioramento dell'accuratezza diagnostica dell'ecocardiografia. Quest'ultima ricordiamo essere una delle prime metodiche strumentali utilizzate nell'iter diagnostico dei pazienti affetti da CA-ATTRwt, in quanto ampiamente disponibile e poco costosa.

Tale sviluppo diviene importante nell'ottica di una malattia come l'amiloidosi in cui la diagnosi precoce gioca un ruolo chiave nel trattamento e nella prognosi del paziente. L'analisi della "texture" ecocardiografica, ossia della struttura radiomica e morfologica, del miocardio dei pazienti affetti potrebbe inoltre svolgere un ruolo nella stratificazione prognostica della malattia.

6. Limiti dello studio ed obbiettivi futuri

Questi risultati sono comunque ottenuti con un numero di dati non sufficiente, gli obbiettivi futuri sono di poter avere più pazienti e più dati da analizzare al fine di poter trarre conclusioni più rilevanti.

Bibliografia

- [1] M. M. Picken, «The Pathology of Amyloidosis in Classification: A Review», *Acta Haematol.*, vol. 143, fasc. 4, pp. 322–334, 2020, doi: 10.1159/000506696.
- [2] M. D. Benson *et al.*, «Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee», *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig. Off. J. Int. Soc. Amyloidosis*, vol. 25, fasc. 4, pp. 215–219, dic. 2018, doi: 10.1080/13506129.2018.1549825.
- [3] I. Vaxman e M. Gertz, «When to Suspect a Diagnosis of Amyloidosis», *Acta Haematol.*, vol. 143, fasc. 4, pp. 304–311, apr. 2020, doi: 10.1159/000506617.
- [4] M. Yazaki e S.-I. Ikeda, «[Characterization of amyloidosis]», *Brain Nerve Shinkei Kenkyu No Shinpo*, vol. 66, fasc. 7, pp. 723–730, lug. 2014.
- [5] J. D. Sipe e A. S. Cohen, «Review: History of the Amyloid Fibril», *J. Struct. Biol.*, vol. 130, fasc. 2, pp. 88–98, giu. 2000, doi: 10.1006/jsbi.2000.4221.
- [6] E. D. Eanes e G. G. Glenner, «X-ray diffraction studies on amyloid filaments», *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.*, vol. 16, fasc. 11, pp. 673–677, nov. 1968, doi: 10.1177/16.11.673.
- [7] C. I. Sungur, «Molecular mechanisms of amyloidosis», *N. Engl. J. Med.*, vol. 349, fasc. 19, pp. 1872–1873; author reply 1872–1873, nov. 2003, doi: 10.1056/NEJM200311063491920.
- [8] M. R. Almeida, I. L. Alves, H. Terazaki, Y. Ando, e M. J. Saraiva, «Comparative Studies of Two Transthyretin Variants with Protective Effects on Familial Amyloidotic Polyneuropathy: TTR R104H and TTR T119M», *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 270, fasc. 3, pp. 1024–1028, apr. 2000, doi: 10.1006/bbrc.2000.2554.
- [9] «Yan: Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulat... - Google Scholar».
https://scholar.google.com/scholar_lookup?hl=en&publication_year=2000&author=SD+Yanauthor=H+Zhuauthor=A+Zhu&title=Receptor-dependent+cell+stress+and+amyloid+accumulation+in+systemic+amyloidosis.
(consultato 5 giugno 2023).
- [10] L. G. Gilstrap *et al.*, «Epidemiology of Cardiac Amyloidosis–Associated Heart Failure Hospitalizations Among Fee-for-Service Medicare Beneficiaries in the United States», *Circ. Heart Fail.*, vol. 12, fasc. 6, p. e005407, giu. 2019, doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005407.
- [11] A. Martinez-Naharro, P. N. Hawkins, e M. Fontana, «Cardiac amyloidosis», *Clin. Med.*, vol. 18, fasc. Suppl 2, pp. s30–s35, apr. 2018, doi: 10.7861/clinmedicine.18-2-s30.
- [12] S. M. Banyersad, J. C. Moon, C. Whelan, P. N. Hawkins, e A. D. Wechalekar, «Updates in Cardiac Amyloidosis: A Review», *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 1, fasc. 2, p. e000364, doi: 10.1161/JAHA.111.000364.
- [13] C. Rapezzi *et al.*, «Cardiac amyloidosis: the great pretender», *Heart Fail. Rev.*, vol. 20, fasc. 2, pp. 117–124, mar. 2015, doi: 10.1007/s10741-015-9480-0.
- [14] R. Al Hamed, A. H. Bazarbachi, A. Bazarbachi, F. Malard, J.-L. Harousseau, e M. Mohty, «Comprehensive Review of AL amyloidosis: some practical

- recommendations», *Blood Cancer J.*, vol. 11, fasc. 5, Art. fasc. 5, mag. 2021, doi: 10.1038/s41408-021-00486-4.
- [15] G. Palladini, P. Milani, e G. Merlini, «Novel strategies for the diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis», *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, vol. 13, fasc. 11, pp. 1195–1211, nov. 2015, doi: 10.1586/14779072.2015.1093936.
- [16] «Clinical aspects of systemic amyloid diseases - ScienceDirect». <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570963905002815?via%3Dihub> (consultato 5 giugno 2023).
- [17] G. Palladini, P. Milani, e G. Merlini, «Management of AL amyloidosis in 2020», *Blood*, vol. 136, fasc. 23, pp. 2620–2627, dic. 2020, doi: 10.1182/blood.2020006913.
- [18] A. D. Wechalekar, M. Fontana, C. C. Quarta, e M. Liedtke, «AL Amyloidosis for Cardiologists», *JACC CardioOncology*, vol. 4, fasc. 4, pp. 427–441, nov. 2022, doi: 10.1016/j.jaccao.2022.08.009.
- [19] G. L. Vita *et al.*, «Circulating microRNAs Profile in Patients With Transthyretin Variant Amyloidosis», *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 13, p. 102, giu. 2020, doi: 10.3389/fnmol.2020.00102.
- [20] K. Bay *et al.*, «Suspicion, screening, and diagnosis of wild-type transthyretin amyloid cardiomyopathy: a systematic literature review», *ESC Heart Fail.*, vol. 9, fasc. 3, pp. 1524–1541, mar. 2022, doi: 10.1002/ehf2.13884.
- [21] M. S. Maurer, P. Elliott, R. Comenzo, M. Semigran, e C. Rapezzi, «Addressing Common Questions Encountered in the Diagnosis and Management of Cardiac Amyloidosis», *Circulation*, vol. 135, fasc. 14, pp. 1357–1377, apr. 2017, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024438.
- [22] A. Porcari, M. Fontana, e J. D. Gillmore, «Transthyretin cardiac amyloidosis», *Cardiovasc. Res.*, vol. 118, fasc. 18, pp. 3517–3535, ago. 2022, doi: 10.1093/cvr/cvac119.
- [23] C. Rapezzi *et al.*, «Transthyretin-related amyloidoses and the heart: a clinical overview», *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 7, fasc. 7, Art. fasc. 7, lug. 2010, doi: 10.1038/nrcardio.2010.67.
- [24] J. Reisinger, S. W. Dubrey, M. Lavalley, M. Skinner, e R. H. Falk, «Electrophysiologic Abnormalities in AL (Primary) Amyloidosis With Cardiac Involvement», *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 30, fasc. 4, pp. 1046–1051, ott. 1997, doi: 10.1016/S0735-1097(97)00267-2.
- [25] M. Papathanasiou, A. Carpinteiro, C. Rischpler, T. Hagenacker, T. Rassaf, e P. Luedike, «Diagnosing cardiac amyloidosis in every-day practice: A practical guide for the cardiologist», *IJC Heart Vasc.*, vol. 28, p. 100519, giu. 2020, doi: 10.1016/j.ijcha.2020.100519.
- [26] M. P. van den Berg *et al.*, «Heart failure with preserved ejection fraction, atrial fibrillation, and the role of senile amyloidosis», *Eur. Heart J.*, vol. 40, fasc. 16, pp. 1287–1293, apr. 2019, doi: 10.1093/eurheartj/ehz057.
- [27] M. Grogan *et al.*, «Artificial Intelligence–Enhanced Electrocardiogram for the Early Detection of Cardiac Amyloidosis», *Mayo Clin. Proc.*, vol. 96, fasc. 11, pp. 2768–2778, nov. 2021, doi: 10.1016/j.mayocp.2021.04.023.

- [28] G. Tini *et al.*, «Diagnostic pathways to wild-type transthyretin amyloid cardiomyopathy: a multicentre network study», *Eur. J. Heart Fail.*, vol. n/a, fasc. n/a, doi: 10.1002/ejhf.2823.
- [29] R. H. Falk e C. C. Quarta, «Echocardiography in cardiac amyloidosis», *Heart Fail. Rev.*, vol. 20, fasc. 2, pp. 125–131, mar. 2015, doi: 10.1007/s10741-014-9466-3.
- [30] S. Mondillo *et al.*, «Speckle-tracking echocardiography: a new technique for assessing myocardial function», *J. Ultrasound Med. Off. J. Am. Inst. Ultrasound Med.*, vol. 30, fasc. 1, pp. 71–83, gen. 2011, doi: 10.7863/jum.2011.30.1.71.
- [31] D. Kyrouac *et al.*, «Echocardiographic and clinical predictors of cardiac amyloidosis: limitations of apical sparing», *ESC Heart Fail.*, vol. 9, fasc. 1, pp. 385–397, 2022, doi: 10.1002/ehf2.13738.
- [32] S. Saeed, J. M. Saad, A. I. Ahmed, Y. Han, e M. H. Al-Mallah, «The utility of positron emission tomography in cardiac amyloidosis», *Heart Fail. Rev.*, vol. 27, fasc. 5, pp. 1531–1541, set. 2022, doi: 10.1007/s10741-021-10183-w.
- [33] C. X. Tang, S. E. Petersen, M. M. Sanghvi, G. M. Lu, e L. J. Zhang, «Cardiovascular magnetic resonance imaging for amyloidosis: The state-of-the-art», *Trends Cardiovasc. Med.*, vol. 29, fasc. 2, pp. 83–94, feb. 2019, doi: 10.1016/j.tcm.2018.06.011.
- [34] M. Fontana, R. Chung, P. N. Hawkins, e J. C. Moon, «Cardiovascular magnetic resonance for amyloidosis», *Heart Fail. Rev.*, vol. 20, fasc. 2, pp. 133–144, mar. 2015, doi: 10.1007/s10741-014-9470-7.
- [35] D. F. Hutt *et al.*, «Prognostic utility of the Perugini grading of 99mTc-DPD scintigraphy in transthyretin (ATTR) amyloidosis and its relationship with skeletal muscle and soft tissue amyloid», *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*, vol. 18, fasc. 12, pp. 1344–1350, dic. 2017, doi: 10.1093/ehjci/jew325.
- [36] «Hydroxychloroquine-Mediated Cardiotoxicity With a False-Positive 99mTechnetium–Labeled Pyrophosphate Scan for Transthyretin-Related Cardiac Amyloidosis | Circulation: Cardiovascular Imaging». <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCIMAGING.117.007059> (consultato 7 giugno 2023).
- [37] «Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis | Circulation». <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612> (consultato 7 giugno 2023).
- [38] R. E. Fowles e J. W. Mason, «Endomyocardial biopsy», *Ann. Intern. Med.*, vol. 97, fasc. 6, pp. 885–894, dic. 1982, doi: 10.7326/0003-4819-97-6-885.
- [39] C. C. Quarta *et al.*, «Diagnostic sensitivity of abdominal fat aspiration in cardiac amyloidosis», *Eur. Heart J.*, vol. 38, fasc. 24, pp. 1905–1908, giu. 2017, doi: 10.1093/eurheartj/ehx047.
- [40] «Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis | Circulation», 7 giugno 2023. <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612> (consultato 7 giugno 2023).

- [41] E. Communications, «DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift». https://eref.thieme.de/ejournals/1439-4413_2020_16#/10.1055-a-1019-2072 (consultato 8 giugno 2023).
- [42] G. Palladini *et al.*, «Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine», *Clin. Chem.*, vol. 55, fasc. 3, pp. 499–504, mar. 2009, doi: 10.1373/clinchem.2008.117143.
- [43] P. Garcia-Pavia *et al.*, «Diagnosis and treatment of cardiac amyloidosis: a position statement of the ESC Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases», *Eur. Heart J.*, vol. 42, fasc. 16, pp. 1554–1568, apr. 2021, doi: 10.1093/eurheartj/ehab072.
- [44] D. A. Brenner *et al.*, «Human amyloidogenic light chains directly impair cardiomyocyte function through an increase in cellular oxidant stress», *Circ. Res.*, vol. 94, fasc. 8, pp. 1008–1010, apr. 2004, doi: 10.1161/01.RES.0000126569.75419.74.
- [45] M. A. Gertz, «Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2022 update on diagnosis, prognosis, and treatment», *Am. J. Hematol.*, vol. 97, fasc. 6, pp. 818–829, 2022, doi: 10.1002/ajh.26569.
- [46] F. Perfetto *et al.*, «Amiloidosi da transtiretina (ATTR): l'altra faccia della medaglia», *G. Tec. Nefrol. E Dialitiche*, vol. 31, fasc. 1, pp. 12–21, mar. 2019, doi: 10.1177/0394936219837448.
- [47] H. E. Billingsley, S. L. Hummel, e S. Carbone, «The role of diet and nutrition in heart failure: A state-of-the-art narrative review», *Prog. Cardiovasc. Dis.*, vol. 63, fasc. 5, pp. 538–551, 2020, doi: 10.1016/j.pcad.2020.08.004.
- [48] «Progress and challenges in the treatment of cardiac amyloidosis: a review of the literature - Adam - 2021 - ESC Heart Failure - Wiley Online Library». <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ehf2.13443> (consultato 20 giugno 2023).
- [49] A. Pollak e R. H. Falk, «Left ventricular systolic dysfunction precipitated by verapamil in cardiac amyloidosis», *Chest*, vol. 104, fasc. 2, pp. 618–620, ago. 1993, doi: 10.1378/chest.104.2.618.
- [50] Digitalis Investigation Group, «The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure», *N. Engl. J. Med.*, vol. 336, fasc. 8, pp. 525–533, feb. 1997, doi: 10.1056/NEJM199702203360801.
- [51] A. V. Kristen *et al.*, «Improved outcomes after heart transplantation for cardiac amyloidosis in the modern era», *J. Heart Lung Transplant. Off. Publ. Int. Soc. Heart Transplant.*, vol. 37, fasc. 5, pp. 611–618, mag. 2018, doi: 10.1016/j.healun.2017.11.015.
- [52] R. D. Adam *et al.*, «Progress and challenges in the treatment of cardiac amyloidosis: a review of the literature», *ESC Heart Fail.*, vol. 8, fasc. 4, pp. 2380–2396, 2021.
- [53] D. Feng *et al.*, «Intracardiac thrombosis and anticoagulation therapy in cardiac amyloidosis», *Circulation*, vol. 119, fasc. 18, pp. 2490–2497, mag. 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.785014.

- [54] C. R. Barbhaiya *et al.*, «Electrophysiologic assessment of conduction abnormalities and atrial arrhythmias associated with amyloid cardiomyopathy», *Heart Rhythm*, vol. 13, fasc. 2, pp. 383–390, feb. 2016, doi: 10.1016/j.hrthm.2015.09.016.
- [55] I. Elsokkari e J. L. Sapp, «Electrical storm: Prognosis and management», *Prog. Cardiovasc. Dis.*, vol. 66, pp. 70–79, 2021, doi: 10.1016/j.pcad.2021.06.007.
- [56] M. D. Benson *et al.*, «Inotersen Treatment for Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis», *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, fasc. 1, pp. 22–31, lug. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1716793.
- [57] D. Adams *et al.*, «Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis», *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, fasc. 1, pp. 11–21, lug. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1716153.
- [58] «Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy | NEJM». <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1805689> (consultato 20 giugno 2023).
- [59] L. Obici *et al.*, «Doxycycline plus tauroursodeoxycholic acid for transthyretin amyloidosis: a phase II study», *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig. Off. J. Int. Soc. Amyloidosis*, vol. 19 Suppl 1, pp. 34–36, giu. 2012, doi: 10.3109/13506129.2012.678508.
- [60] G. Palladini e G. Merlini, «How I treat AL amyloidosis», *Blood*, vol. 139, fasc. 19, pp. 2918–2930, mag. 2022, doi: 10.1182/blood.2020008737.
- [61] E. Kastritis *et al.*, «Daratumumab-Based Treatment for Immunoglobulin Light-Chain Amyloidosis», *N. Engl. J. Med.*, vol. 385, fasc. 1, pp. 46–58, lug. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2028631.
- [62] «How to Image Cardiac Amyloidosis.pdf», *Google Docs*. https://drive.google.com/file/d/14wuUyf2dkVYXpy0JWfnBN2Zt7PSMaZ-q/view?usp=drive_open&usp=embed_facebook (consultato 14 giugno 2023).
- [63] S. Rizzo *et al.*, «Radiomics: the facts and the challenges of image analysis», *Eur. Radiol. Exp.*, vol. 2, p. 36, nov. 2018, doi: 10.1186/s41747-018-0068-z.
- [64] C. Scapicchio, M. Gabelloni, A. Barucci, D. Cioni, L. Saba, e E. Neri, «A deep look into radiomics», *Radiol. Med. (Torino)*, vol. 126, fasc. 10, pp. 1296–1311, 2021, doi: 10.1007/s11547-021-01389-x.
- [65] «Radiomica», *Wikipedia*. 30 aprile 2023. Consultato: 20 giugno 2023. [Online]. Disponibile su: https://it.wikipedia.org/w/index.php?title=Radiomica&oldid=133254247#Texture_di_primo_ordine
- [66] M. Garo, «Regressione logistica: definizione e interpretazione», *Mathsly Research*, 18 ottobre 2021. <https://www.mathsly.it/wordpress/regressione-logistica-definizione-e-interpretazione/> (consultato 19 giugno 2023).
- [67] K. J. Lafata, Y. Wang, B. Konkel, F.-F. Yin, e M. R. Bashir, «Radiomics: a primer on high-throughput image phenotyping», *Abdom. Radiol.*, vol. 47, fasc. 9, pp. 2986–3002, set. 2022, doi: 10.1007/s00261-021-03254-x.

Ringraziamenti

Desidero innanzitutto ringraziare i Professori Italo Porto e Marco Canepa per la loro disponibilità, spero di diventare un professionista del vostro calibro.

Ringrazio le Dottoresse Sara Mori e Margherita Zanoletti per la loro gentilezza, pazienza ed il grande aiuto che mi hanno dato nel completare questo elaborato.

Arrivato alla fine di un percorso tanto lungo quanto estenuante, sono innumerevoli le emozioni che mi hanno accompagnato giorno per giorno durante questi ultimi 6 anni: la prima è stata indubbiamente la paura, la medicina non era mai stata presente nella mia vita prima d'ora ed il timore di non riuscire nel completamento di questo percorso era reale, l'ultima è stata invece la soddisfazione; così grande e tangibile da farmi pensare che forse è sbagliato considerare l'esistenza di limiti assoluti, perché spesso e volentieri l'unico limite esistente è quello che vogliamo imporci, e molto spesso, non è vero che è insuperabile.

Ringrazio per primi gli artefici di tutto questo, coloro senza i quali non avrei mai avuto i mezzi pecuniari ma soprattutto emotivi per continuare a seguire il tracciato ed arrivare al traguardo, ovvero i miei genitori. Grazie davvero, non riuscirò mai a sdebitarmi per il vostro amore, non avrei potuto chiedere di meglio.

Ringrazio poi tutte le persone che in qualche modo hanno preso parte a questo percorso: dai miei fratelli Alessio e Mattia per avermi sopportato ed aiutato, ai miei amici Silvio ed Edoardo per tutti gli esami studiati insieme, sono sicuro che anche da adulti ci ricorderemo del tempo passato intorno a quel tavolo, prima rotondo, poi rettangolare.

Ringrazio Manuela, perché nonostante tutto è stata parte integrante della mia vita, mi ha aiutato, sopportato ed abbiamo condiviso davvero tantissimo insieme.

Ringrazio mio cugino Manuel, per avermi avvicinato con ammirazione alla medicina.

Ringrazio Emma perché c'è, vorrei che rimanesse al mio fianco più a lungo possibile.

Ringrazio infine i miei amici più stretti, coloro che hanno saputo distrarmi, per rendere più leggeri anche i momenti più pesanti, Andrea, Tommy, Giorgio e Gianluca.

AUDENTES FORTUNA IU VAT

