

## Amiloidosi renali

**Marco Basset, Mario Nuvolone e Giovanni Palladini**

Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Laboratorio Biochimica - Biotecnologie e Diagnostica avanzata, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia, Pavia

### ABSTRACT

#### Renal amyloidoses.

Renal amyloidoses are a group of rare misfolding protein diseases caused by the deposition of a precursor protein in the kidney as insoluble amyloid fibrils, causing renal damage and dysfunction that can progress to end-stage renal failure requiring dialysis. This heterogeneous group includes commoner diseases as light chain (AL) and reactive (AA) amyloidosis as well as rarer entities as hereditary renal amyloidosis. Differential diagnosis is mandatory to avoid therapeutic errors and requires amyloid typing on tissue biopsy and, in selected cases, DNA analysis. In AL and AA amyloidosis, biomarkers are well-established tools that help clinicians in diagnosis, prognosis assessment and evaluation of treatment efficacy, highlighting the important role of the clinical laboratory in the management of these rare diseases. In AL amyloidosis, the identification of the monoclonal protein requires the combination of electrophoresis, immunofixation of both serum and urine, and serum free light chain (FLC) assessment. Severity of renal involvement and risk of progression to dialysis are predicted at diagnosis by 24h-proteinuria and estimated glomerular filtration rate (eGFR). Treatment efficacy is assessed with monoclonal protein studies, including serum FLC measurement; hematologic response can result in improvement of renal damage, evaluated by improvements in 24h-proteinuria and eGFR from baseline. In AA amyloidosis, a periodical evaluation of serum amyloid A (SAA) serum concentration reflects the activity of the underlying inflammatory disease and evaluates the efficacy of treatment. The severity of renal involvement can be assessed at diagnosis with 24h-proteinuria and eGFR. Only few data on prognostic markers are available on other types of renal amyloidosis.

*Parole chiave:* amiloidosi, danno renale, prognosi

### INTRODUZIONE

Le amiloidosi sono un gruppo di malattie causate dall'alterato ripiegamento di una proteina che si deposita in organi e tessuti sotto forma di fibrille di amiloide (1). Ad oggi, sono state descritte 36 diverse proteine precursori dell'amiloide che possono essere responsabili di forme di amiloidosi sistemica o localizzata nell'uomo (2). Nell'amiloidosi localizzata, la proteina amiloidogena viene prodotta e depositata localmente formando lesioni nodulari o placche (3). Nell'amiloidosi sistemica invece, la proteina responsabile della malattia è presente in circolo e può depositarsi lontano dal sito di produzione, raggiungendo diversi organi e compromettendone il funzionamento. Quando il cuore è colpito dalla malattia, il quadro clinico è caratterizzato dalle manifestazioni

dello scompenso cardiaco e la prognosi può essere molto grave. L'amiloidosi renale, invece, è contraddistinta nella maggior parte dei casi dalla presenza di proteinuria glomerulare ed insufficienza renale che, nelle fasi avanzate di malattia, può essere terminale e richiedere l'inizio del trattamento dialitico. Pertanto, sebbene la prognosi sia migliore, l'interessamento renale può risultare in una compromissione, anche importante, della qualità della vita. Nella Tabella 1 sono riportate le principali forme di amiloidosi renale fino ad ora descritte. Tra queste, figurano forme acquisite, come l'amiloidosi da catene leggere libere (amiloidosi AL) e l'amiloidosi reattiva a flogosi cronica (amiloidosi AA), che sono le più comuni, e rare forme di amiloidosi ereditaria. Sebbene le manifestazioni cliniche possano essere simili, queste

Corrispondenza a: Giovanni Palladini, Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Viale Golgi, 19 - 27100 Pavia, Tel 0382-502994, E-mail [giovanni.palladini@unipv.it](mailto:giovanni.palladini@unipv.it)

Ricevuto: 11.02.2021

Revisionato: 03.04.2021

Accettato: 09.04.2021

Publicato on-line: 10.05.2021

DOI: 10.19186/BC\_2021.027

**Tabella 1**  
*Amiloidosi sistemiche con coinvolgimento renale*

Tipo di amiloidosi	Proteina precursore	Condizione predisponente	Frequenza relativa
AL	Catena leggera immunoglobulinica	Clone B-cellulare	La più frequente
AA	SAA	Infiammazione cronica	Comune (in declino)
ALECT2	Fattore chemotattico leucocitario 2	Sconosciuta, più frequente in alcuni gruppi etnici	Comune
AFib	Catena A $\alpha$ del fibrinogeno	Mutazione	Rara
AGel	Gelsolina	Mutazione	Molto rara
ALys	Lisozima	Mutazione	Molto rara
AApoA-I	Apolipoproteina A-I	Mutazione	Molto rara
AApoA-II	Apolipoproteina A-II	Mutazione	Molto rara
AApoC-II	Apolipoproteina C-II	Mutazione	Molto rara
AApoC-III	Apolipoproteina C-III	Mutazione	Molto rara
AApoA-IV	Apolipoproteina A-IV	Sconosciuta	Molto rara
ACal	Calcitonina	Carcinoma midollare della tiroide	Molto rara

*AL, amiloidosi da catene leggere libere; AA, amiloidosi reattiva a flogosi cronica; SAA, siero amiloide A; ALECT2, amiloidosi da fattore chemotattico leucocitario 2; AFib, amiloidosi da catena A $\alpha$  del fibrinogeno; AGel, amiloidosi da gelsolina; ALys, amiloidosi da lisozima; AApoA-I, amiloidosi da apolipoproteina A-I; AApoA-II, amiloidosi da apolipoproteina A-II; AApoC-II, amiloidosi da apolipoproteina C-II; AApoC-III, amiloidosi da apolipoproteina C-III; AApoA-IV, amiloidosi da apolipoproteina A-IV; ACal, amiloidosi da calcitonina;*

forme di amiloidosi renale differiscono per patogenesi e terapia. Pertanto è fondamentale una corretta diagnosi differenziale che si basa sull'identificazione della proteina precursore dell'amiloide su tessuto biotico (aspirato di grasso periombelicale, biopsia di ghiandola salivare minore labiale, biopsia renale) mediante immunoistochimica in microscopia elettronica (4) e tecniche di analisi proteomica in spettrometria di massa (5,6) e sull'analisi del DNA. Come vedremo, il laboratorio di biochimica clinica, ha un ruolo cardine nella gestione dei pazienti con amiloidosi renale, specialmente nell'amiloidosi AL e AA, dove l'utilizzo di biomarcatori è alla base della diagnosi, della prognosi e della valutazione della risposta al trattamento.

## AMILOIDOSI AL

### Patogenesi

Nell'amiloidosi AL sistemica, la proteina precursore dell'amiloide è una catena leggera libera immunoglobulinica (CLL) prodotta da un clone B-cellulare midollare e che può depositarsi in tutti gli

organi e tessuti con l'eccezione del sistema nervoso centrale. Gli organi più colpiti sono il cuore e il rene, rispettivamente nell'80% e nel 65% dei casi (7).

Il clone B-cellulare si presenta più frequentemente come un piccolo clone plasmacellulare (infiltrato midollare mediano <10%), rientrando così nella maggioranza dei casi nel quadro di una gammopatia monoclonale di significato renale o clinico (MGRS/MGCS) (8,9). Tuttavia, raramente può presentare le caratteristiche di un linfoma linfoplasmacitico e, in rarissimi casi, di un linfoma della zona marginale (10,11).

Le caratteristiche principali del clone plasmacellulare amiloidogenico sono la restrizione clonale per l'isotipo lambda delle catene leggere nei 3/4 dei casi, la dipendenza da un efficiente funzionamento del proteasoma (che spiega l'efficacia clinica di farmaci inibitori del proteasoma nell'amiloidosi AL) (12,13), e l'elevata frequenza di alterazioni citogenetiche (circa il 90%), in particolar modo la traslocazione t(11;14) nel 50% dei casi e l'amplificazione 1q21 nel 20% (14). Le trisomie, invece, sono meno frequenti rispetto al mieloma multiplo, mentre la delezione del cromosoma

17 e le traslocazioni t(4;14) e t(14;16) sono osservate in meno del 10% dei casi (14,15).

L'isotipo lambda delle CLL ha una maggiore propensione a formare amiloide ed è presente nel 75% dei pazienti affetti da amiloidosi AL. Sono stati eseguiti numerosi studi al fine di comprendere i meccanismi di fibrillogenosi e di tropismo d'organo. Recentemente, due studi hanno caratterizzato in microscopia crioelettronica la struttura di due catene leggere lambda isolate dal cuore di due pazienti con amiloidosi AL cardiaca ed hanno dimostrato che il processo di alterato ripiegamento proteico della catena leggera dipende dalla sequenza della sua regione variabile (16,17). È interessante notare che la maggior parte delle CLL lambda amiloidogeniche è codificata da tre geni della regione variabile delle catene leggere immunoglobuliniche (IGLV): *IGLV2-14*, *IGLV6-57* e *IGLV3-1*. È stata inoltre osservata un'associazione tra il segmento genico IGVJ impiegato e l'interessamento d'organo. In particolar modo è stata osservata un'elevata prevalenza di coinvolgimento renale in presenza di *IGLV6-57* (18).

La patogenesi del danno d'organo nell'amiloidosi AL è in parte dovuta all'alterazione strutturale che i depositi di amiloide causano a livello tissutale. Tuttavia, diversi studi in vitro e su modelli animali, hanno dimostrato una diretta tossicità delle CLL amiloidogeniche isolate da pazienti con amiloidosi AL cardiaca (19-21). Questi studi indicano che, almeno per quanto concerne il danno cardiaco, esiste una proteotossicità diretta delle CLL amiloidogeniche che causa un aumento dello stress ossidativo con attivazione delle proteinchinasi attivate dal mitogeno p38 (MAPK) con conseguente morte cellulare (22,23).

La nostra conoscenza sulla patogenesi di altri tipi di danno d'organo è limitata. Nel coinvolgimento renale, le fibrille di amiloide si depositano a livello glomerulare, sovvertendone la struttura. Alcuni studi suggeriscono che le cellule mesangiali possano avere un ruolo nella genesi del danno renale nell'amiloidosi AL (24-26).

## Il ruolo del Laboratorio

### *Diagnosi di amiloidosi AL renale*

Il sospetto di amiloidosi AL renale deve essere posto in tutti i pazienti con gammopatia monoclonale di incerto significato (MGUS) con comparsa di albuminuria o sindrome nefrosica. Considerando che questi pazienti eseguono periodici controlli ematologici per la discrasia plasmacellulare nota, la ricerca sistematica di albuminuria rappresenta una semplice pratica che permette di giungere alla diagnosi di amiloidosi AL renale in uno stadio ancora pre-sintomatico (27).

Tuttavia, le manifestazioni cliniche dell'amiloidosi renale possono insorgere anche in pazienti in cui non è nota la presenza di una gammopatia monoclonale. Pertanto, l'amiloidosi AL renale deve essere considerata nella diagnosi differenziale di qualunque paziente con albuminuria o sindrome nefrosica non riferibile a diabete mellito.

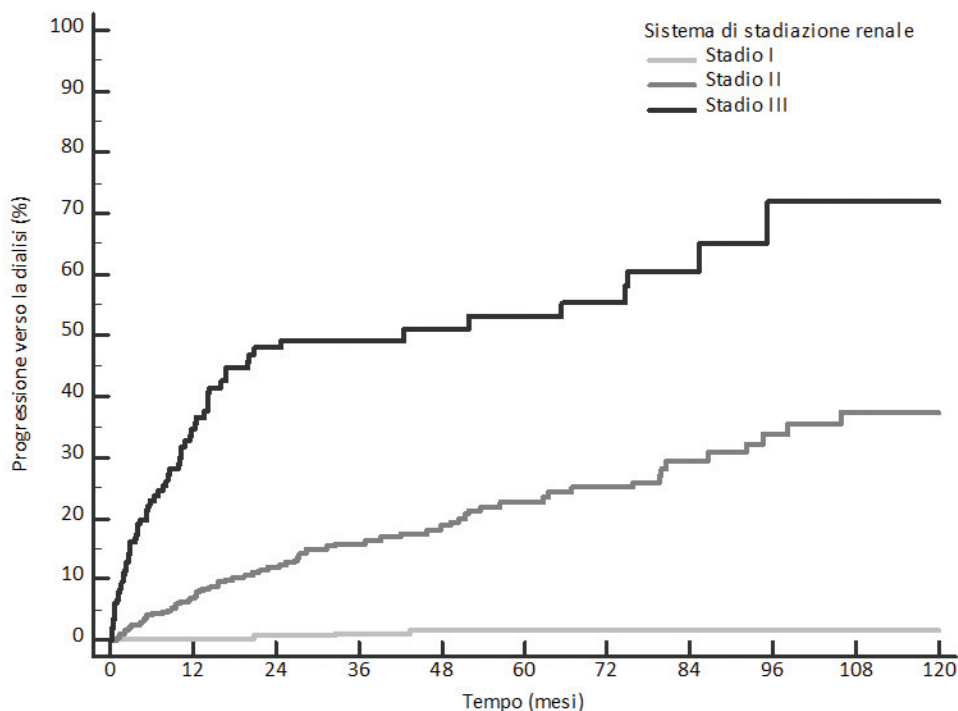
Considerate le piccole dimensioni del clone B-cellulare responsabile della malattia, l'identificazione della componente monoclonale amiloidogenica richiede la combinazione di diversi metodi per ottenere una sensibilità adeguata: l'elettroforesi (capillare o su supporto solido) del siero, l'immunofissazione del siero e delle urine e la quantificazione delle CLL circolanti (28,29). I metodi utilizzati per la quantificazione delle CLL circolanti nel siero al momento più utilizzati sono due: uno è un metodo immunonefelometrico che utilizza una miscela di anticorpi policlonali (Freelite®, Binding Site, UK); l'altro, più recente, impiega anticorpi monoclonali (N-latex®, Siemens Healthineers, Germania). Nonostante queste due metodiche abbiano sensibilità diagnostica comparabile, la loro concordanza è subottimale. Pertanto, questi due test non sono intercambiabili, né confrontabili (30). È importante tener presente che tutti gli studi per l'identificazione di valori soglia per la definizione della prognosi alla diagnosi e per la valutazione della risposta nell'amiloidosi AL, sono stati eseguiti con la metodica Freelite®. Cionondimeno, uno studio eseguito su campioni di pazienti con mieloma multiplo smoldering, ha mostrato che la metodica N-latex® è comparabile alla metodica Freelite® per definire il rischio di progressione verso una forma di malattia attiva (31). Inoltre, a differenza della metodica Freelite® (32), la metodica N-latex® può essere utilizzata anche nei pazienti con insufficienza renale avanzata o terminale, mantenendo gli stessi limiti di riferimento utilizzati nei pazienti con funzionalità renale normale (33,34).

Sono al momento in corso di studio nuove procedure per l'identificazione di componenti monoclonali mediante l'uso di tecniche di spettrometria di massa (35).

La proteinuria delle 24 ore è al momento il marcatore di elezione per l'identificazione del coinvolgimento renale nell'amiloidosi AL (limite decisionale: 0,5 g/24 ore, con prevalenza di albuminuria, al fine di escludere i casi con esclusiva o prevalente proteinuria di Bence Jones, in assenza di significativa glomerulopatia protido-disperdente) (36). Tuttavia, questo esame richiede la raccolta delle urine delle 24 ore che, se non eseguita in modo corretto, può introdurre un importante errore preanalitico (37). Negli ultimi anni è stato pertanto valutato l'utilizzo del rapporto albuminuria/creatininuria (UACR) come indice per la definizione di interessamento renale in corso di amiloidosi AL sistemica. Questo indice ha mostrato una correlazione molto forte con la proteinuria delle 24 ore nell'amiloidosi AL (coefficiente *r* di Pearson: 0,90) (38). Recentemente, i ricercatori della Mayo Clinic hanno dimostrato che UACR è un marcatore sensibile e specifico per l'identificazione del coinvolgimento renale (valore decisionale: 300 mg/g, 30 mg/mmol/L), sebbene questi risultati necessitino ancora di una convalida (39).

### *Prognosi del danno renale*

Sebbene nell'amiloidosi AL il danno renale sia caratterizzato inizialmente da proteinuria glomerulare,



**Figura 1**

*Sistema di stadiazione renale nell'amiloidosi AL.*

*Dati provenienti da 1378 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AL valutati presso il Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia tra il 2004 e il 2018. Lo stadio I comprende 648 pazienti, lo stadio II 528 e lo stadio III 168 (34 pazienti non sono stati inclusi per mancanza di dati). Tasso di dialisi a 2, 5 e 10 anni dalla diagnosi: 1%, 2% e 2% per lo stadio I; 12%, 23% e 37% per lo stadio II; 48%, 53% e 72% per lo stadio III.*

questa può accompagnarsi nel tempo ad un'insufficienza renale che può progredire fino alla necessità di iniziare un trattamento sostitutivo. Identificare precocemente i pazienti a maggior rischio di progressione verso l'insufficienza renale terminale è importante per disegnare la corretta strategia terapeutica.

Il rischio di progressione verso l'insufficienza renale terminale nell'amiloidosi AL può essere stimato mediante un sistema di stadiazione renale basato sui biomarcatori, che comprende la proteinuria delle 24 ore e la velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) (40). I pazienti che hanno una proteinuria <5 g/24 ore e un eGFR >50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (stadio I) hanno un rischio minimo di progressione verso un'insufficienza renale terminale. Questo rischio è moderatamente elevato nei pazienti in stadio II (proteinuria >5 g/24 ore o eGFR <50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>) e significativamente maggiore in quelli in stadio III (proteinuria >5 g/24 ore e eGFR <50 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>; Figura 1).

Recentemente, i ricercatori della Mayo Clinic hanno proposto un sistema di stadiazione basato su UACR, sostituendo nel sistema di stadiazione attualmente in uso la proteinuria delle 24 ore con questo indice (valore decisionale: 3 600 mg/g, 360 mg/mmol) (39).

In uno studio europeo il fattore di crescita/differenziazione 15 (GDF-15) è emerso come un potenziale marcatore per definire la gravità del danno renale. La presenza di una concentrazione sierica di GDF-15 >4 000 µg/L alla diagnosi, correlava con un

aumentato rischio di progressione verso la dialisi (41).

Il laboratorio è in grado, inoltre, di identificare il grado di coinvolgimento cardiaco, grazie ad un sistema di stadiazione basato sui biomarcatori cardiaci [frammento aminotermiale del propeptide natriuretico di tipo B (NT-proBNP) e troponina cardiaca] (42,43). Questo sistema di stadiazione è utilizzato nella pratica clinica per identificare i pazienti più fragili e per decidere la strategia terapeutica più appropriata.

### Risposta alla terapia

**Principi di terapia.** La terapia dell'amiloidosi AL è una chemioterapia diretta contro il clone B-cellulare ed ha l'obiettivo di raggiungere una rapida e profonda riduzione delle CLL amiloidogeniche che possa tradursi in un miglioramento della sopravvivenza e in una riduzione della disfunzione d'organo. La scelta terapeutica deve tener conto della fragilità generale dei pazienti e della gravità del danno d'organo (44,45). Inoltre, è stato dimostrato che la presenza di alterazioni citogenetiche nel clone plasmacellulare, in particolare modo della traslocazione t(11;14) e dell'amplificazione 1q21, possono influenzare l'efficacia di alcuni farmaci (46-48). Pertanto, anche queste anomalie del cariotipo possono contribuire al disegno della miglior strategia terapeutica.

I pazienti a basso rischio (20% dei casi) possono beneficiare di una terapia con l'agente alchilante melphalan ad alte dosi seguito da trapianto autologo di

cellule staminali emopoietiche (ASCT), che può essere preceduto da una terapia di induzione a base dell'inibitore del proteasoma bortezomib (49). L'induzione con bortezomib può essere parte di una strategia terapeutica sequenziale, dove l'ASCT viene proposto solo ai pazienti che non hanno ottenuto una risposta soddisfacente al bortezomib (50). I pazienti con amiloidosi AL renale, in assenza di coinvolgimento cardiaco, possono essere i pazienti ideali per una strategia terapeutica che preveda l'ASCT, purché la funzionalità renale sia ancora buona (51).

I pazienti a rischio intermedio (60-70% dei casi), non eleggibili all'autotrapianto, possono essere trattati con regimi a base di bortezomib o, in presenza di controindicazioni a questo farmaco, con uno schema a base di melphalan per os e desametasone. Dati recenti indicano che la combinazione di bortezomib e dell'anticorpo anti-CD38 daratumumab è particolarmente efficace (52,53).

I pazienti a rischio elevato (15% dei casi) sono estremamente fragili e richiedono l'impiego di schemi a dosaggi ridotti al fine di bilanciare il rischio della tossicità legata alla terapia con la necessità di ottenere una rapida risposta ematologica.

Esistono diverse terapie che possono essere proposte ai pazienti che recidivano dopo la terapia di prima linea. Tra queste, gli schemi a base di farmaci immunomodulatori (thalidomide, lenalidomide, pomalidomide) rappresentano il cardine della terapia di

salvataggio nei pazienti con amiloidosi AL refrattaria o recidivata (54). Tuttavia, la lenalidomide deve essere somministrata con cautela nei pazienti con amiloidosi AL renale, data la potenziale nefrotossicità di questo farmaco (55).

Un'altra possibilità per i pazienti recidivati è costituita dal daratumumab, un anticorpo monoclonale diretto contro l'antigene plasmacellulare di superficie CD38, che si è dimostrato molto efficace nei pazienti con amiloidosi AL recidivata/refrattaria (56-58). In particolare, uno studio ha mostrato un elevato tasso di risposta renale (60%) in pazienti esposti a questo farmaco (59).

**Valutazione della risposta.** Questa è valutata ogni due cicli al fine di poter decidere rapidamente se cambiare strategia terapeutica in caso di risposta non soddisfacente. La valutazione della risposta si basa sulla quantificazione delle CLL circolanti nel siero e sull'elettroforesi con immunofissazione del siero e delle urine.

Sono stati identificati quattro livelli di risposta ematologica, valutabili nei pazienti che alla diagnosi presentano una differenza tra l'isotipo coinvolto e non coinvolto delle catene leggere libere sieriche (dFLC) >50 mg/L: remissione completa (CR), risposta ematologica parziale molto buona, risposta parziale e non risposta (60,61). Recentemente, è stato proposto un nuovo criterio di risposta (risposta parziale con bassa dFLC), per i pazienti con dFLC compresa tra 20-50 mg/L (Tabella 2) (62,63). Questi criteri di risposta sono stati

**Tabella 2**

*Criteri di risposta ematologica e renale nell'amiloidosi AL*

Criteri di risposta	Definizione	Definizione aggiornata
CR	Assenza di componenti monoclonali all'immunofissazione del siero e delle urine e rapporto kappa/lambda delle CLL nella norma	Entrambi i criteri devono includere: - Assenza della catena leggera amiloidogena (sia libera che parte di un'immunoglobulina completa) definita da elettroforesi con immunofissazione del siero e delle urine negativa - Rapporto delle CLL nella norma o concentrazione della CLL non amiloidogena maggiore di quella amiloidogena con rapporto normale o alterato
VGPR	Raggiungimento di una dFLC <40 mg/L	Raggiungimento di una dFLC <40 mg/L
PR	Riduzione della dFLC >50% dalla diagnosi	Riduzione della dFLC >50% dalla diagnosi
PR con bassa dFLC*	Raggiungimento di una dFLC <10 mg/L	Raggiungimento di una dFLC <10 mg/L
NR	Tutti gli altri casi	Tutti gli altri casi
Risposta renale	Riduzione della proteinuria delle 24 ore >30% dalla diagnosi in assenza di una riduzione dell'eGFR >25%	Riduzione della proteinuria delle 24 ore >30% dalla diagnosi in assenza di una riduzione dell'eGFR >25%

*CR, remissione completa; CLL, catene leggere libere; VGPR, risposta parziale molto buona; PR, risposta parziale; dFLC, differenza tra le catene leggere libere amiloidogeniche/non amiloidogeniche; NR, non risposta; eGFR, velocità di filtrazione glomerulare stimata.*

*\*Sono valutabili per questo criterio di risposta i pazienti con una dFLC alla diagnosi tra 20-50 mg/L.*

identificati e convalidati in studi che hanno impiegato la metodica Freelite®. Non è noto se questi criteri siano validi anche quando la misurazione delle CLL circolanti nel siero è eseguita con la metodica N-latex® o con altri test in commercio. Pertanto, sarebbe preferibile eseguire la valutazione della risposta ematologica nell'amiloidosi AL utilizzando la metodica Freelite®.

Più profonda è la risposta ematologica, migliore è la sopravvivenza di questi pazienti. Al momento, è in corso un dibattito in merito alla valutazione della qualità della risposta ematologica. Due studi hanno recentemente riportato che una profonda riduzione della CLL amiloidogena dopo terapia (definita come una dFLC <10 mg/L o una concentrazione dell'isotipo coinvolto <20 mg/L) si associa ad una migliore sopravvivenza (64,65). Tuttavia, questi risultati provengono da singole casistiche di pazienti e mancano di una convalida esterna. Inoltre, un altro studio ha evidenziato che i pazienti che ottengono una CR (definita con elettroforesi con immunofissazione del siero e delle urine negativa e rapporto delle CLL sieriche nella norma) hanno una migliore prognosi rispetto a quelli che raggiungono una dFLC <10 mg/L o una concentrazione dell'isotipo coinvolto <20 mg/L (66). Sono al momento in corso di convalida nuove tecniche dotate di elevata sensibilità per la valutazione della profondità della risposta ematologica, come la spettrometria di massa per l'identificazione di componenti monoclonali su siero e urine (35). Inoltre, anche l'analisi di sequenziamento genetico di nuova generazione e la citofluorimetria sono stati valutati nell'amiloidosi AL per lo studio della malattia minima residua su sangue midollare (67). Recentemente, uno studio che ha impiegato tecniche di citofluorimetria di nuova generazione in pazienti con amiloidosi AL in CR dopo terapia, ha dimostrato che il 50% di questi mostrava segni di malattia minima residua a livello midollare (68).

La risposta ematologica può accompagnarsi ad un contestuale miglioramento del danno d'organo. La risposta renale può essere valutata verificando la presenza di una riduzione della proteinuria delle 24 ore dalla diagnosi, in assenza di una riduzione dell'eGFR (Tabella 2). I pazienti che raggiungono una risposta renale hanno un minor rischio di progressione verso la dialisi (40).

## AMILOIDOSI AA

### Patogenesi

L'amiloidosi AA è causata dalla persistenza di uno stato flogistico di lunga durata. La proteina precursore dell'amiloide, in questo caso, è la siero amiloide A (SAA), una proteina di fase acuta che ha un ruolo nella regolazione immunitaria, funge da opsonina nella fagocitosi batterica e modula il trasporto del colesterolo dai tessuti danneggiati (69). Il rene è colpito in quasi la totalità dei casi. Il secondo organo più coinvolto è il

fegato (20% dei casi), mentre l'interessamento cardiaco è molto raro (circa il 2%).

La SAA è prodotta dagli epatociti a seguito della stimolazione di diverse citochine infiammatorie, come interleuchina 1 (IL-1), interleuchina 6 (IL-6) e Tumor Necrosis Factor (TNF). Sono state identificate numerose condizioni che possono causare amiloidosi AA attraverso il sostenimento di uno stato infiammatorio prolungato (70). Tra queste figurano patologie reumatologiche/autoimmuni, patologie infettive croniche (tubercolosi, osteomielite, bronchiectasie), malattie infiammatorie gastrointestinali croniche, neoplasie ematologiche o di organo solido (malattia di Castleman) e rare malattie ereditarie [(febbre mediterranea familiare (FMF), sindrome periodica associata al recettore del TNF (TRAPS), sindrome periodica associata alle criopirine (CAPS)]. In alcuni casi, la causa del persistente stato flogistico rimane ignota. I casi in cui l'eziologia della flogosi cronica non è identificabile riguardano soggetti di età avanzata, più frequentemente di sesso femminile, che presentano un aumentato indice di massa corporea (BMI). È stato ipotizzato che l'obesità possa giocare un ruolo nel mantenimento dello stato infiammatorio nei pazienti con flogosi da causa sconosciuta (71). L'incidenza di amiloidosi AA è in calo nei Paesi occidentali, probabilmente come conseguenza dei nuovi farmaci disponibili in ambito reumatologico. Infatti, è stata osservata in particolar modo una riduzione dei casi di amiloidosi AA secondari a patologie reumatiche. È interessante notare che è stato osservato un parallelo aumento relativo dei casi secondari a patologie infettive croniche, nonché delle forme di amiloidosi AA secondaria a flogosi da causa non nota (72-74).

A prescindere dalla causa soggiacente allo stato infiammatorio, al persistere dello stato flogistico, la concentrazione di SAA può raggiungere una soglia che rende la proteina più suscettibile a depositarsi nei tessuti in forma di fibrille di amiloide (75). Le fibrille di amiloide sono costituite invariabilmente dal frammento aminoterminale della SAA. Alcuni studi hanno dimostrato che il processo di fibrillogenesi richiede un rimodellamento proteolitico. Tuttavia non è chiaro se tale processo avvenga prima o dopo l'inizio del processo di alterato ripiegamento della SAA (76,77). Il processo di alterato ripiegamento proteico e di fibrillogenesi sembra inoltre favorito dalla presenza di glicosamminoglicani e dalle proteine della matrice extracellulare (78). Dal punto di vista fisiopatologico, il danno renale si presenta in tutti i casi con deposizione di amiloide a livello glomerulare. In alcuni casi possono essere osservati depositi di amiloide anche a livello interstiziale e delle pareti dei vasi sanguigni (79).

Non sono ancora del tutto definiti i fattori ambientali e genetici che possono predisporre i pazienti affetti da una patologia infiammatoria cronica a sviluppare amiloidosi AA. Tuttavia, alcuni studi indicano che il genotipo che codifica per l'isoforma 1 della SAA (SAA1)

può predisporre lo sviluppo di SAA in diversi gruppi etnici (80,81).

### Il ruolo del Laboratorio

Il coinvolgimento renale nell'amiloidosi AA si presenta con proteinuria e, in alcuni casi, con insufficienza renale (82). In circa il 10% dei casi, i pazienti con amiloidosi AA sono già in uno stato di insufficienza renale terminale al momento della diagnosi. Anche in questa forma di amiloidosi, pertanto, è importante poter giungere ad una diagnosi precoce di amiloidosi AA, in modo da poter intervenire sulla malattia, prima che il danno renale sia irreversibile. Il laboratorio ha a disposizione diversi biomarcatori di danno renale, come l'albuminuria, la cistatina C e l'eGFR, che, se misurati periodicamente, possono rilevare un sospetto coinvolgimento renale nei pazienti con malattie infiammatorie croniche quando questo è ancora presintomatico (83,84). Il sospetto di amiloidosi dovrà poi essere confermato mediante dimostrazione e tipizzazione dei depositi di amiloide.

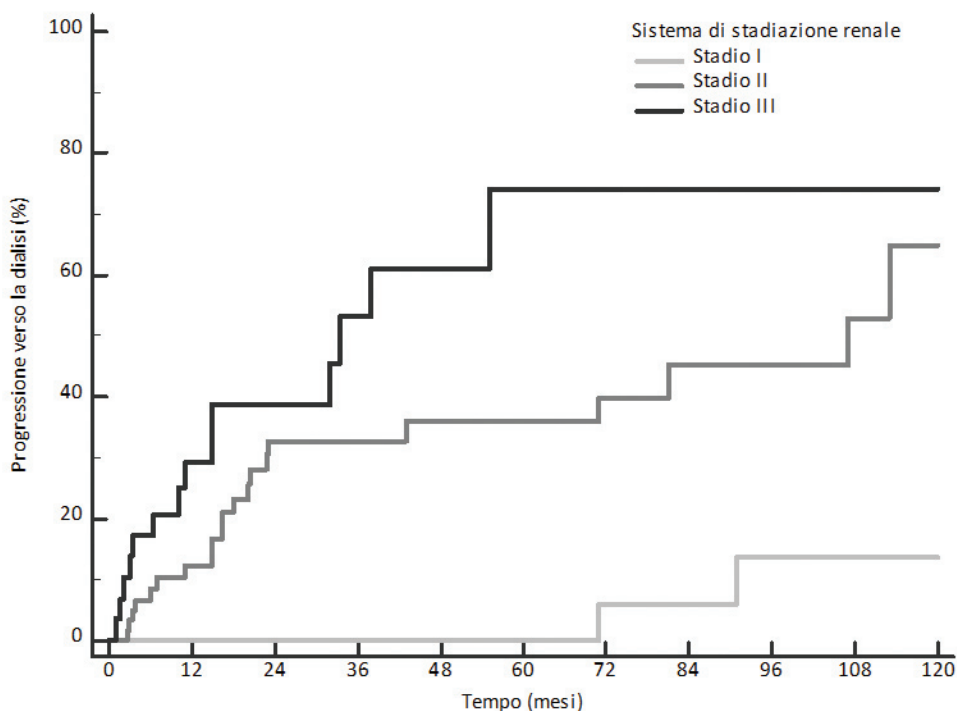
### Prognosi

La valutazione dei biomarcatori di danno renale alla diagnosi identifica i pazienti in uno stato di malattia più avanzato. La presenza di una eGFR <45 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> si associa ad una sopravvivenza ridotta. Altri fattori che

sembrano avere un impatto sulla sopravvivenza dei pazienti con amiloidosi AA sono l'età alla diagnosi (soglia: 55 anni), la presenza di una patologia infettiva alla base della flogosi e di condizioni predisponenti a infezioni ricorrenti, come le bronchiectasie. La gravità del danno renale all'esordio può essere stimata attraverso un sistema di stadiazione comprendente l'eGFR e la proteinuria delle 24 ore. Lo stadio I è definito da proteinuria delle 24 ore <4 g/24 ore e eGFR >35 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, lo stadio II da proteinuria delle 24 ore >4 g/24 ore o eGFR <35 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, mentre lo stadio III da proteinuria delle 24 ore >4 g/24 ore e eGFR <35 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. I pazienti in stadio I hanno un rischio ridotto di progressione verso la dialisi, che risulta significativamente più elevato in quelli in stadio II e, in particolar modo, in stadio III (Figura 2) (85). Questo sistema di stadiazione richiede ancora di essere convalidato in una popolazione indipendente. Tuttavia, il valore prognostico di questi marcatori indica come i pazienti che giungono alla diagnosi con elevata proteinuria ed insufficienza renale avanzata siano quelli che necessitano quanto prima di una terapia efficace che possa arrestare la progressione del danno d'organo.

### Risposta alla terapia

**Principi di terapia.** La terapia dell'amiloidosi AA si basa sul trattamento della patologia alla base della flogosi



**Figura 2**

Sistema di stadiazione renale nell'amiloidosi AA.

Dati provenienti da 200 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AA valutati presso il Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia tra il 1991 e il 2016. Lo stadio I comprende 47 pazienti, lo stadio II 73 e lo stadio III 32 (48 pazienti non sono stati inclusi per mancanza di dati). Tasso di dialisi a 2, 5 e 10 anni dalla diagnosi: 0%, 0% e 14% per lo stadio I; 33%, 36% e 65% per lo stadio II; 39%, 74% e 74% per lo stadio III.

cronica ed ha come obiettivo il raggiungimento di una profonda riduzione della concentrazione di SAA che deve essere mantenuta nel tempo per evitare la progressione della malattia (82). Sebbene i dati siano limitati a piccole popolazioni di pazienti, gli agenti biologici si sono dimostrati efficaci nei pazienti con amiloidosi AA secondaria malattie reumatiche (86,87). La colchicina è un farmaco efficace nei pazienti con FMF e amiloidosi AA (88). Nei pazienti refrattari al trattamento con colchicina, delle valide alternative terapeutiche sono costituite dall'anakinra, un antagonista del recettore di IL-1, e dal canakinumab, un anticorpo monoclonale "anti-IL-1 beta" (89,90). Nei pazienti con amiloidosi AA secondaria a flogosi di origine sconosciuta, l'anakinra rappresenta un'opzione terapeutica sicura ed efficace (91).

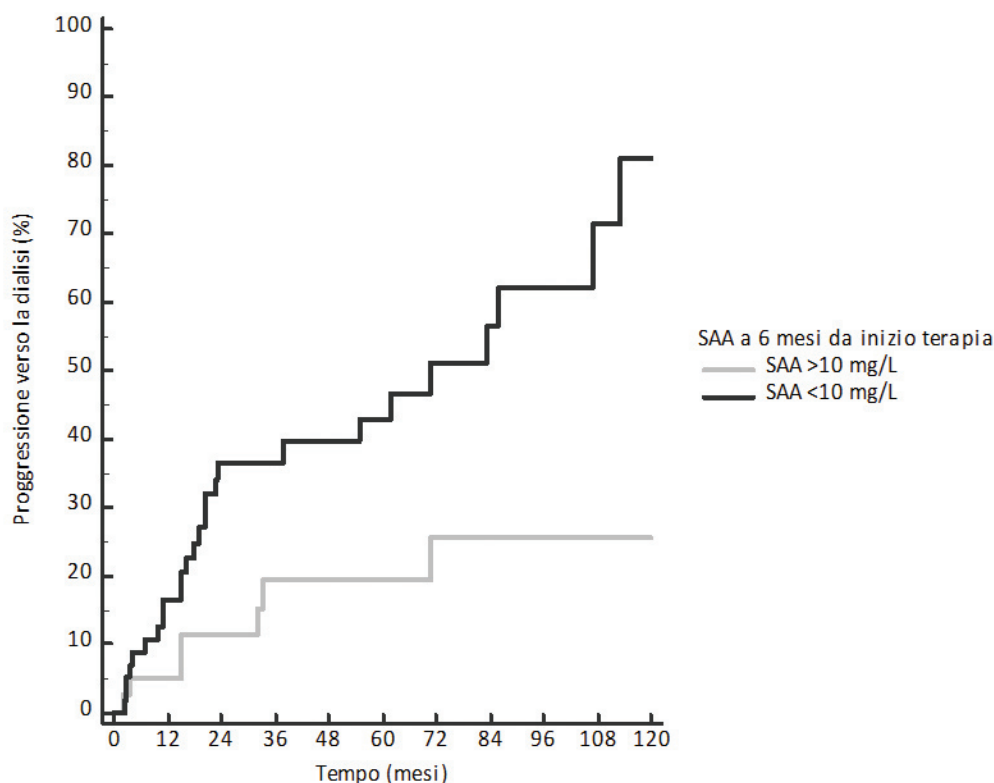
**Valutazione della risposta.** L'obiettivo della terapia per l'amiloidosi AA è il raggiungimento e mantenimento di una concentrazione di SAA quanto più bassa possibile, almeno <10 mg/L. Infatti, al di sotto di questa soglia, la malattia tende a rimanere stabile e, in alcuni casi, può essere osservata una progressiva regressione del danno d'organo, con miglioramento della sopravvivenza (82,92). Inoltre, il raggiungimento di una concentrazione di SAA

<10 mg/L dopo i primi sei mesi terapia può tradursi in un miglioramento della sopravvivenza renale (85) (Figura 3). Per questo motivo, la concentrazione di SAA dovrebbe essere misurata precocemente e continuativamente nel corso della terapia, in modo da poter cambiare strategia terapeutica se il controllo della flogosi non è soddisfacente. In assenza della possibilità di misurare la SAA, la proteina C reattiva può essere un valido biomarcatore per il monitoraggio di questi pazienti (93).

### ALTRE FORME DI AMILOIDOSI RENALE

L'amiloidosi da fattore chemotattico leucocitario 2 (amiloidosi ALECT2) è una forma di amiloidosi acquisita a prevalente interessamento renale ed epatico (94). È la terza causa di amiloidosi renale negli Stati Uniti e colpisce prevalentemente alcuni gruppi etnici (ispanici, popolazioni americane autoctone, egiziani, indiani) (95-97). L'amiloidosi ALECT2 renale si manifesta con proteinuria e insufficienza renale, ma la progressione del danno renale è generalmente molto lenta.

L'amiloidosi renale da catena alfa del fibrinogeno (amiloidosi AFib) è la forma più comune di amiloidosi renale ereditaria in Europa e negli Stati Uniti (98,99). È causata da mutazioni nel gene che codifica la catena alfa



**Figura 3. Progressione verso la dialisi in base alla riduzione della SAA dopo 6 mesi di terapia**

Dati provenienti da 200 pazienti con nuova diagnosi di amiloidosi AA valutati presso il Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia tra il 1991 e il 2016. I dati sulla concentrazione di SAA a 6 mesi dalla terapia erano disponibili il 98 pazienti. I pazienti con SAA <10 mg/L erano 39 e quelli con SAA >10 mg/L 59. Tasso di dialisi a 2, 5 e 10 anni dalla diagnosi: 12%, 20% e 25% per i pazienti con SAA <10 mg/L; 37%, 43% e 81% per i pazienti con SAA >10 mg/L.

del fibrinogeno e si presenta con proteinuria glomerulare e insufficienza renale, che può progredire rapidamente.

Le apolipoproteine sono proteine prodotte in gran parte dal fegato e deputate al trasporto di lipidi. Cinque tipi di apolipoproteine possono causare amiloidosi sistemica con coinvolgimento renale. La più frequente è l'amiloidosi da apolipoproteina A-I (amiloidosi AApoA-I). Questa è una forma di amiloidosi ereditaria autosomica dominante di cui sono state descritte più di 20 mutazioni. L'organo più frequentemente colpito è il rene e il danno renale si presenta con insufficienza renale con modestissima proteinuria (100). L'amiloidosi da apolipoproteina A-II (AApoA-II) è stata descritta per la prima volta nel 2001 e si manifesta principalmente con un interessamento renale caratterizzato da insufficienza renale, ipertensione arteriosa e proteinuria (101). L'amiloidosi da apolipoproteina C-II (amiloidosi AApoC-II) e da apolipoproteina C-III (amiloidosi AApoC-III) sono forme estremamente rare di amiloidosi renale ereditaria di cui sono stati ad oggi descritti pochi casi (102-104). L'amiloidosi da apolipoproteina A-IV si differenzia dalle altre per formare amiloidosi nel suo stato nativo, in assenza di mutazioni genetiche. La sua presentazione clinica è simile a quella dell'amiloidosi AApoA-I, con un coinvolgimento renale caratterizzato da insufficienza renale lentamente progressiva e proteinuria minima (105).

L'amiloidosi da lisozima (amiloidosi ALys) e da gelsolina (amiloidosi AGel) sono due forme molto rare di amiloidosi sistemica ereditaria. Nell'amiloidosi ALys il coinvolgimento renale si manifesta con insufficienza renale e si accompagna ad un interessamento gastrointestinale, caratterizzato da nausea, dispepsia e ulcerazioni gastriche con rischio di perforazione (106). Nell'amiloidosi AGel il coinvolgimento renale è presente nel 14% dei casi e si presenta con sindrome nefrosica che può progredire verso l'insufficienza renale terminale (107,108). Gli organi più colpiti in questa rara forma di amiloidosi sono la cornea, il sistema nervoso periferico, i nervi cranici e la cute (108).

In ultimo, l'amiloidosi da calcitonina (amiloidosi ACal) è una forma di amiloidosi che si osserva più comunemente localizzata alla tiroide in concomitanza di un tumore midollare della tiroide. Tuttavia, sono stati descritti alcuni casi in cui depositi di amiloide formati da calcitonina sono stati rilevati a livello renale, in sede di metastasi del tumore midollare della tiroide (109,110).

Non esiste una terapia specifica per queste forme di amiloidosi. In casi selezionati possono essere considerati il trapianto renale o il trapianto combinato di fegato e rene per le forme ereditarie in cui il fegato rappresenta la fonte del precursore amiloidogenico nei pazienti portatori della mutazione.

## CONCLUSIONI

Le amiloidosi renali sono un gruppo di malattie rare che comprendono alcune forme più comuni, come l'amiloidosi AL e AA, e rarissime forme di amiloidosi ereditaria o acquisita. In ogni caso, queste malattie

possono presentarsi con un danno renale che può evolvere verso l'insufficienza renale terminale e limitare la qualità della vita. La diagnosi differenziale è fondamentale per iniziare quanto prima una terapia appropriata che possa preservare la funzionalità renale.

Nel contesto di queste malattie rare, l'utilizzo dei biomarcatori si è affermato per identificare la presenza di danno renale, valutarne la gravità e per verificare l'efficacia della terapia eseguita, specialmente nelle forme più comuni. Nell'amiloidosi AL, l'elettroforesi del siero, l'immunofissazione del siero e delle urine e la quantificazione delle CLL nel siero sono fondamentali per identificare la piccola componente monoclonale responsabile del danno renale. I biomarcatori di danno renale, in particolar modo la proteinuria delle 24 ore, l'eGFR e UACR, sono in grado di definire la gravità del danno renale alla diagnosi e di identificare i pazienti con un elevato rischio di progressione verso la dialisi. Nel corso della terapia specifica, la precoce misurazione delle CLL e della proteinuria delle 24 ore possono fornire importanti informazioni sull'efficacia della terapia che possono guidare la scelta terapeutica. Nell'amiloidosi AA, la quantificazione della proteinuria delle 24 ore e la valutazione dell'eGFR sono indispensabili per giudicare la gravità del danno renale alla diagnosi. Un continuo e costante monitoraggio della concentrazione della SAA è necessario nel corso della malattia e in particolar modo durante la terapia per verificarne l'efficacia.

In questo modo, il laboratorio di biochimica clinica conferma il suo ruolo insostituibile nel supportare il Clinico, fornendogli i dati necessari per poter prendere le decisioni cliniche e terapeutiche più appropriate anche nel caso di queste rare malattie renali.

## CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

1. Merlini G, Dispenzieri A, Santhorawala V, et al. Systemic immunoglobulin light chain amyloidosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018;4:38.
2. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, et al. Amyloid nomenclature 2020: update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid* 2020;27:217-22.
3. Westermarck P. Localized AL amyloidosis: a suicidal neoplasm? *Ups J Med Sci* 2012;117:244-50.
4. Fernández de Larrea C, Verga L, et al. A practical approach to the diagnosis of systemic amyloidoses. *Blood* 2015;125:2239-44.
5. Vrana JA, Gamez JD, Madden BJ, et al. Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood* 2009;114:4957-9.
6. Brambilla F, Lavatelli F, Di Silvestre D, et al. Reliable typing of systemic amyloidoses through proteomic analysis of subcutaneous adipose tissue. *Blood* 2012;119:1844-7.
7. Basset M, Nuvolone M, Palladini G, et al. Novel challenges in the management of immunoglobulin light

- chain amyloidosis: from the bench to the bedside. *Expert Rev Hematol* 2020;1-13.
8. Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones. *Blood* 2006;108:2520-30.
  9. Dispenzieri A. Monoclonal gammopathies of clinical significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2020;2020:380-8.
  10. Milani P, Merlini G. Monoclonal IgM-related AL amyloidosis. *Best Pract Res Clin Haematol* 2016;29:241-8.
  11. Basset M, Defrancesco I, Milani P, et al. Nonlymphoplasmacytic lymphomas associated with light-chain amyloidosis. *Blood* 2020;135:293-6.
  12. Sitia R, Palladini G, Merlini G. Bortezomib in the treatment of AL amyloidosis: targeted therapy? *Haematologica* 2007;92:1302-7.
  13. Oliva L, Orfanelli U, Resnati M, et al. The amyloidogenic light chain is a stressor that sensitizes plasma cells to proteasome inhibitor toxicity. *Blood* 2017;129:2132-42.
  14. Bochtler T, Hegenbart U, Cremer FW, et al. Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood* 2008;111:4700-5.
  15. Muchtar E, Dispenzieri A, Kumar SK, et al. Interphase fluorescence in situ hybridization in untreated AL amyloidosis has an independent prognostic impact by abnormality type and treatment category. *Leukemia* 2017;31:1562-9.
  16. Rademaker L, Lin YH, Annamalai K, et al. Cryo-EM structure of a light chain-derived amyloid fibril from a patient with systemic AL amyloidosis. *Nat Commun* 2019;10:1103.
  17. Swuec P, Lavatelli F, Tasaki M, et al. Cryo-EM structure of cardiac amyloid fibrils from an immunoglobulin light chain AL amyloidosis patient. *Nat Commun* 2019;10:1269.
  18. Kourelis TV, Dasari S, Theis JD, et al. Clarifying immunoglobulin gene usage in systemic and localized immunoglobulin light-chain amyloidosis by mass spectrometry. *Blood* 2017;129:299-306.
  19. Liao R, Jain M, Teller P, et al. Infusion of light chains from patients with cardiac amyloidosis causes diastolic dysfunction in isolated mouse hearts. *Circulation* 2001;104:1594-7.
  20. Diomede L, Rognoni P, Lavatelli F, et al. Investigating heart-specific toxicity of amyloidogenic immunoglobulin light chains: A lesson from *C. elegans*. *Worm* 2014;3:e965590.
  21. Mishra S, Guan J, Plovie E, et al. Human amyloidogenic light chain proteins result in cardiac dysfunction, cell death, and early mortality in zebrafish. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013;305:H95-103.
  22. Lavatelli F, Imperlini E, Orrù S, et al. Novel mitochondrial protein interactors of immunoglobulin light chains causing heart amyloidosis. *FASEB J* 2015;29:4614-28.
  23. Shi J, Guan J, Jiang B, et al. Amyloidogenic light chains induce cardiomyocyte contractile dysfunction and apoptosis via a non-canonical p38alpha MAPK pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:4188-93.
  24. Teng J, Russell WJ, Gu X, et al. Different types of glomerulopathic light chains interact with mesangial cells using a common receptor but exhibit different intracellular trafficking patterns. *Lab Invest* 2004;84:440-51.
  25. Teng J, Turbat-Herrera EA, Herrera GA. Extrusion of amyloid fibrils to the extracellular space in experimental mesangial AL-amyloidosis: transmission and scanning electron microscopy studies and correlation with renal biopsy observations. *Ultrastruct Pathol* 2014;38:104-15.
  26. Teng J, Turbat-Herrera EA, Herrera GA. An animal model of glomerular light-chain-associated amyloidogenesis depicts the crucial role of lysosomes. *Kidney Int* 2014;86:738-46.
  27. Merlini G, Palladini G. Differential diagnosis of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:595-603.
  28. Palladini G, Russo P, Bosoni T, et al. Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin Chem* 2009;55:499-504.
  29. Katzmann JA, Kyle RA, Benson J, et al. Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 2009;55:1517-22.
  30. Palladini G, Jaccard A, Milani P, et al. Circulating free light chain measurement in the diagnosis, prognostic assessment and evaluation of response of AL amyloidosis: comparison of Freelite and N latex FLC assays. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1734-43.
  31. Henriot B, Rouger E, Rousseau C, et al. Prognostic value of involved/uninvolved free light chain ratio determined by Freelite and N Latex FLC assays for identification of high-risk smoldering myeloma patients. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:1397-405.
  32. Hutchison CA, Harding S, Hewins P, et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1684-90.
  33. Jacobs JF, Hoedemakers RM, Teunissen E, et al. N Latex FLC serum free light-chain assays in patients with renal impairment. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:853-9.
  34. Kennard A, Hawley C, Tate J, et al. Comparison of Freelite™ and N Latex serum free light chain assays in subjects with end stage kidney disease on haemodialysis. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:1045-52.
  35. Milani P, Murray DL, Barnidge DR, et al. The utility of MASS-FIX to detect and monitor monoclonal proteins in the clinic. *Am J Hematol* 2017;92:772-9.
  36. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *Am J Hematol* 2005;79:319-28.
  37. Benz-de Bretagne I, Perrier F, Piéroni L, et al. Preanalytical step of urinary protein measurement: from urine sampling to preparation for analysis of the specimen. *Ann Biol Clin (Paris)* 2018;76:609-16.
  38. Palladini G, Milani P, Basset M, et al. Urinary albumin to creatinine ratio in diagnosis and risk stratification of renal AL amyloidosis. *Amyloid* 2017;24:68-9.
  39. Visram A, Al Saleh AS, Parmar H, et al. Correlation between urine ACR and 24-h proteinuria in a real-world cohort of systemic AL amyloidosis patients. *Blood Cancer J* 2020;10:124.
  40. Palladini G, Hegenbart U, Milani P, et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood* 2014;124:2325-32.
  41. Kastritis E, Papassotiriou I, Merlini G, et al. Growth differentiation factor-15 is a new biomarker for survival and renal outcomes in light chain amyloidosis. *Blood* 2018;131:1568-75.
  42. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, et al. Serum cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide: a staging system for primary systemic amyloidosis. *J Clin Oncol* 2004;22:3751-7.
  43. Wechalekar AD, Schonland SO, Kastritis E, et al. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. *Blood*

- 2013;121:3420-7.
44. Palladini G, Milani P, Merlini G. Management of AL amyloidosis in 2020. *Blood* 2020;136:2620-7.
  45. Nuvolone M, Milani P, Palladini G, et al. Management of the elderly patient with AL amyloidosis. *Eur J Intern Med* 2018;58:48-56.
  46. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, et al. Gain of chromosome 1q21 is an independent adverse prognostic factor in light chain amyloidosis patients treated with melphalan/dexamethasone. *Amyloid* 2014;21:9-17.
  47. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, et al. Translocation t(11;14) is associated with adverse outcome in patients with newly diagnosed AL amyloidosis when treated with bortezomib-based regimens. *J Clin Oncol* 2015;33:1371-8.
  48. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, et al. Prognostic impact of cytogenetic aberrations in AL amyloidosis patients after high-dose melphalan: a long-term follow-up study. *Blood* 2016;128:594-602.
  49. Hwa YL, Kumar SK, Gertz MA, et al. Induction therapy pre-autologous stem cell transplantation in immunoglobulin light chain amyloidosis: a retrospective evaluation. *Am J Hematol* 2016;91:984-8.
  50. Basset M, Milani P, Nuvolone M, et al. Sequential response-driven bortezomib-based therapy followed by autologous stem cell transplant in AL amyloidosis. *Blood Adv* 2020;4:4175-9.
  51. Sidiqi MH, Nadiminti K, Al Saleh AS, et al. Autologous stem cell transplantation in patients with AL amyloidosis with impaired renal function. *Bone Marrow Transplant* 2019;54:1775-9.
  52. Palladini G, Kastiris E, Maurer MS, et al. Daratumumab Plus CyBORd for patients with newly diagnosed AL amyloidosis: safety run-in results of ANDROMEDA. *Blood* 2020;136:71-80.
  53. Kastiris E, Palladini G, Minnema CM, et al. Subcutaneous daratumumab + cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone (CyBORd) in patients with newly diagnosed light chain (AL) amyloidosis: primary results from the phase 3 ANDROMEDA study. Abstract for the EHA 2020 meeting 2020.
  54. Milani P, Palladini G. Conventional Therapy for Amyloid Light-Chain Amyloidosis. *Acta Haematol* 2020;143:365-72.
  55. Specter R, Sanchorawala V, Seldin DC, et al. Kidney dysfunction during lenalidomide treatment for AL amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:881-6.
  56. Sanchorawala V, Sarosiek S, Schulman A, et al. Safety, Tolerability, and Response Rates of Daratumumab in Relapsed AL Amyloidosis: Results of a Phase II Study. *Blood* 2020;135:1541.
  57. Roussel M, Merlini G, Chevret S, et al. A prospective phase II of daratumumab in previously treated systemic light chain amyloidosis (AL) patients. *Blood* 2020;135:1531-40.
  58. Kimmich CR, Terzer T, Benner A, et al. Daratumumab for systemic AL amyloidosis: prognostic factors and adverse outcome with nephrotic range albuminuria. *Blood* 2020;135:1517-30.
  59. Milani P, Fazio F, Basset M, et al. High rate of profound clonal and renal responses with Daratumumab treatment in heavily pre-treated patients with AL amyloidosis and high bone marrow plasma cell infiltrate. *Am J Hematol* 2020;95:900-5.
  60. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *J Clin Oncol* 2012;30:4541-9.
  61. Palladini G, Schönland SO, Sanchorawala V, et al. Clarification on the definition of complete haematologic response in light-chain (AL) amyloidosis. *Amyloid* 2021;1-2.
  62. Milani P, Basset M, Russo F, et al. Patients with light-chain amyloidosis and low free light-chain burden have distinct clinical features and outcome. *Blood* 2017;130:625-31.
  63. Dittrich T, Bochtler T, Kimmich C, et al. AL amyloidosis patients with low amyloidogenic free light chain levels at first diagnosis have an excellent prognosis. *Blood* 2017;130:632-42.
  64. Manwani R, Cohen O, Sharpley F, et al. A prospective observational study of 915 patients with systemic AL amyloidosis treated with upfront bortezomib. *Blood* 2019;134:2271-80.
  65. Muchtar E, Dispenzieri A, Leung N, et al. Optimizing deep response assessment for AL amyloidosis using involved free light chain level at end of therapy: failure of the serum free light chain ratio. *Leukemia* 2019;33:527-31.
  66. Milani P, Basset M, Nuvolone M, et al. Indicators of profound hematologic response in AL amyloidosis: complete response remains the goal of therapy. *Blood Cancer J* 2020;10:90.
  67. Kastiris E, Kostopoulos IV, Terpos E, et al. Evaluation of minimal residual disease using next-generation flow cytometry in patients with AL amyloidosis. *Blood Cancer J* 2018;8:46.
  68. Palladini G, Paiva B, Wechalekar A, et al. Minimal residual disease negativity by next-generation flow cytometry is associated with improved organ response in AL amyloidosis. *Blood Cancer J* 2021;11:34.
  69. Westermark GT, Fändrich M, Westermark P. AA amyloidosis: pathogenesis and targeted therapy. *Annu Rev Pathol* 2015;10:321-44.
  70. Brunger AF, Nienhuis HLA, Bijzet J, et al. Causes of AA amyloidosis: a systematic review. *Amyloid* 2020;27:1-12.
  71. Blank N, Hegenbart U, Dietrich S, et al. Obesity is a significant susceptibility factor for idiopathic AA amyloidosis. *Amyloid* 2018;25:37-45.
  72. Lane T, Pinney JH, Gilbertson JA, et al. Changing epidemiology of AA amyloidosis: clinical observations over 25 years at a single national referral centre. *Amyloid* 2017;24:162-6.
  73. Laiho K, Tiitinen S, Kaarela K, et al. Secondary amyloidosis has decreased in patients with inflammatory joint disease in Finland. *Clin Rheumatol* 1999;18:122-3.
  74. Vasala M, Immonen K, Kautiainen H, et al. More evidence of declining incidence of amyloidosis associated with inflammatory rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol* 2010;39:461-5.
  75. Obici L, Merlini G. AA amyloidosis: basic knowledge, unmet needs and future treatments. *Swiss Med Wkly* 2012;142:w13580.
  76. Stix B, Kähne T, Sletten K, et al. Proteolysis of AA amyloid fibril proteins by matrix metalloproteinases-1, -2, and -3. *Am J Pathol* 2001;159:561-70.
  77. van der Hilst JC, Yamada T, Op den Camp HJ, et al. Increased susceptibility of serum amyloid A 1.1 to degradation by MMP-1: potential explanation for higher risk of type AA amyloidosis. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:1651-4.
  78. Li JP, Galvis ML, Gong F, et al. In vivo fragmentation of heparan sulfate by heparanase overexpression renders mice resistant to amyloid protein A amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:6473-7.
  79. Said SM, Sethi S, Valeri AM, et al. Renal amyloidosis: origin and clinicopathologic correlations of 474 recent cases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:1515-23.
  80. Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, et al. Significance of SAA1.3 allele genotype in Japanese patients with

- amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:43-9.
81. van der Hilst JC. Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* 2011;11:641-50.
  82. Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, et al. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007;356:2361-71.
  83. Sato H, Kuroda T, Tanabe N, et al. Cystatin C is a sensitive marker for detecting a reduced glomerular filtration rate when assessing chronic kidney disease in patients with rheumatoid arthritis and secondary amyloidosis. *Scand J Rheumatol* 2010;39:33-7.
  84. Tishko AN, Lapin SV, Vavilova TV, et al. Early diagnostics of kidney damage in longstanding rheumatoid arthritis and amyloidosis. *Amyloid* 2011;18:217-8.
  85. Palladini G, Riva E, Basset M, et al. Prognostication of survival and progression to dialysis in AA amyloidosis. *Amyloid* 2017;24:136-7.
  86. Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, et al. Effectiveness of etanercept vs cyclophosphamide as treatment for patients with amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51:2064-9.
  87. Miyagawa I, Nakayamada S, Saito K, et al. Study on the safety and efficacy of tocilizumab, an anti-IL-6 receptor antibody, in patients with rheumatoid arthritis complicated with AA amyloidosis. *Mod Rheumatol* 2014;24:405-9.
  88. Zemer D, Pras M, Sohar E, et al. Colchicine in the prevention and treatment of the amyloidosis of familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 1986;314:1001-5.
  89. Köhler BM, Lorenz HM, Blank N. IL1-blocking therapy in colchicine-resistant familial Mediterranean fever. *Eur J Rheumatol* 2018;5:230-4.
  90. De Benedetti F, Gattorno M, Anton J, et al. Canakinumab for the Treatment of Autoinflammatory Recurrent Fever Syndromes. *N Engl J Med* 2018;378:1908-19.
  91. Lane T, Wechalekar AD, Gillmore JD, et al. Safety and efficacy of empirical interleukin-1 inhibition using anakinra in AA amyloidosis of uncertain aetiology. *Amyloid* 2017;24:189-93.
  92. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, et al. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001;358:24-9.
  93. Stankovic Stojanovic K, Hentgen V, Fellahi S, et al. Concordance between CRP and SAA in familial Mediterranean fever during attack-free period: A study of 218 patients. *Clin Biochem* 2017;50:206-9.
  94. Benson MD, James S, Scott K, et al. Leukocyte chemotactic factor 2: A novel renal amyloid protein. *Kidney Int* 2008;74:218-22.
  95. Larsen CP, Kossman RJ, Beggs ML, et al. Clinical, morphologic, and genetic features of renal leukocyte chemotactic factor 2 amyloidosis. *Kidney Int* 2014;86:378-82.
  96. Larsen CP, Ismail W, Kurtin PJ, et al. Leukocyte chemotactic factor 2 amyloidosis (ALECT2) is a common form of renal amyloidosis among Egyptians. *Mod Pathol* 2016;29:416-20.
  97. Rezk T, Gilbertson JA, Rowczenio D, et al. Diagnosis, pathogenesis and outcome in leucocyte chemotactic factor 2 (ALECT2) amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:241-7.
  98. Gillmore JD, Lachmann HJ, Rowczenio D, et al. Diagnosis, pathogenesis, treatment, and prognosis of hereditary fibrinogen A alpha-chain amyloidosis. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:444-51.
  99. Chapman J, Dogan A. Fibrinogen alpha amyloidosis: insights from proteomics. *Expert Rev Proteomics* 2019;16:783-93.
  100. Gregorini G, Izzi C, Ravani P, et al. Tubulointerstitial nephritis is a dominant feature of hereditary apolipoprotein A-I amyloidosis. *Kidney Int* 2015;87:1223-9.
  101. Benson MD, Liepnieks JJ, Yazaki M, et al. A new human hereditary amyloidosis: the result of a stop-codon mutation in the apolipoprotein AII gene. *Genomics* 2001;72:272-7.
  102. Nasr SH, Dasari S, Hasadsri L, et al. Novel Type of Renal Amyloidosis Derived from Apolipoprotein-CII. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:439-45.
  103. Sethi S, Dasari S, Plaisier E, et al. Apolipoprotein CII Amyloidosis Associated With p.Lys41Thr Mutation. *Kidney Int Rep* 2018;3:1193-201.
  104. Valleix S, Verona G, Jourde-Chiche N, et al. D25V apolipoprotein C-III variant causes dominant hereditary systemic amyloidosis and confers cardiovascular protective lipoprotein profile. *Nat Commun* 2016;7:10353.
  105. Dasari S, Amin MS, Kurtin PJ, et al. Clinical, biopsy, and mass spectrometry characteristics of renal apolipoprotein A-IV amyloidosis. *Kidney Int* 2016;90:658-64.
  106. Sattianayagam PT, Gibbs SD, Rowczenio D, et al. Hereditary lysozyme amyloidosis -- phenotypic heterogeneity and the role of solid organ transplantation. *J Intern Med* 2012;272:36-44.
  107. Schmidt EK, Atula S, Tanskanen M, et al. Causes of death and life span in Finnish gelsolin amyloidosis. *Ann Med* 2016;48:352-8.
  108. Solomon JP, Page LJ, Balch WE, et al. Gelsolin amyloidosis: genetics, biochemistry, pathology and possible strategies for therapeutic intervention. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2012;47:282-96.
  109. Koopman T, Niedlich-den Herder C, Stegeman CA, et al. Kidney Involvement in Systemic Calcitonin Amyloidosis Associated With Medullary Thyroid Carcinoma. *Am J Kidney Dis* 2017;69:546-9.
  110. Tan Y, Li DY, Ma TT, et al. Renal calcitonin amyloidosis in a patient with disseminated medullary thyroid carcinoma. *Amyloid* 2020;27:213-4.