

Il ruolo del Laboratorio nell'amiloidosi reattiva a flogosi cronica: identificazione di biomarcatori prognostici

Marco Basset¹, Paolo Milani¹, Chiara Corpina¹, Tiziana Bosoni², Carla Badulli², Mario Nuvolone¹, Riccardo Albertini², Giovanni Palladini¹

¹Centro 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

²Servizio di Analisi Chimico Cliniche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Questo contributo è stato in parte presentato al 54° Congresso nazionale SIBioC di Genova, 4-7 ottobre 2022, vincendo il Premio Spandrio

ABSTRACT

The role of the laboratory in amyloidosis reactive to chronic inflammation (AA): identification of prognostic biomarkers

Amyloidosis reactive to chronic inflammation (AA amyloidosis) is a rare type of systemic amyloidosis, with prevalent renal involvement and a generally good overall survival (OS). However, progression to end-stage renal failure is frequent. Compared to other types of systemic amyloidosis, the role of prognostic biomarkers has been poorly explored in AA amyloidosis. Moreover, validated staging systems for the identification of patients with a more advanced disease are lacking. The acute phase reactant serum amyloid A (SAA) is the amyloid precursor protein and its concentration is associated with outcome. SAA concentration <10 mg/L after treatment translates in longer OS and lower incidence of end-stage renal failure. Boston researchers proposed a staging system for OS using estimated glomerular filtration rate (eGFR; cut-off, <35 mL/min/1.73 m²) and erythrocyte sedimentation rate (ESR; cut-off, >80 mm/h). Although it lacks validation, this staging system identified three groups with significant different OS. Pavia and Heidelberg researchers identified and validated a staging system for OS based on eGFR (cut-off, <45 mL/min/1.73 m²), serum albumin (cut-off, <30 g/L) and natriuretic peptides [type-B natriuretic peptide (BNP)] cut-off, >130 ng/L and/or N-terminal BNP (NT-proBNP) cut-off, >1000 ng/L. This staging system identified patients with low risk (5-year survival rate: 84%), intermediate risk (5-year survival rate: 55%) and high risk (5-year survival rate: 12%). Moreover, they proposed and validated a renal staging system using proteinuria (cut-off, >3 g/24h) and eGFR (cut-off, <35 mL/min/1.73m²). These data confirm the central role of the clinical laboratory in clinical management of systemic AA amyloidosis.

Parole chiave: amiloidosi, biomarcatori, prognosi

INTRODUZIONE

Le amiloidosi sistemiche rappresentano un gruppo di malattie da alterato ripiegamento proteico in cui una proteina precursore si deposita in organi e tessuti come fibrille di amiloide, danneggiandoli (1). Ad oggi, sono stati identificati 42 precursori proteici dell'amiloide, di cui 18 possono essere responsabili di un'amiloidosi sistemica (2).

Il laboratorio di Biochimica Clinica ricopre un ruolo fondamentale nella gestione dei pazienti con amiloidosi sistemica, guidando la diagnosi, la stratificazione prognostica e, in alcuni casi, la risposta alla terapia specifica. In particolar modo, lo studio dei biomarcatori solubili ha consentito di sviluppare dei sistemi di stadiazione per la sopravvivenza globale nell'amiloidosi

sistemica da catene leggere immunoglobuliniche (AL) e da transtiretina (ATTR) (3-7). Inoltre, nell'amiloidosi AL sono stati identificati e convalidati dei sistemi di stadiazione renale, in grado di identificare i pazienti con un rischio di progressione verso l'insufficienza renale terminale, più elevato alla diagnosi (8-10). Questi sistemi di stadiazione sono utilizzati quotidianamente nella pratica clinica per decidere la strategia terapeutica e per definire il programma di controlli. Inoltre, sono impiegati nella progettazione di studi osservazionali e sperimentazioni cliniche per lo studio di nuovi farmaci.

L'amiloidosi reattiva a flogosi cronica (AA) è una rara forma di amiloidosi sistemica dove la proteina precursore dell'amiloide è la proteina di fase acuta siero amiloide A (SAA).

Corrispondenza a: Giovanni Palladini, Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Viale Golgi 19, Pavia E-mail giovanni.palladini@unipv.it

Ricevuto: 26.11.2023

Revisionato: 06.12.2023

Accettato: 19.01.2024

Publicato on-line: 06.02.2024

DOI: 10.19186/BC_2024.006

Questa forma di amiloidosi sistemica è caratterizzata dalla presenza di un coinvolgimento renale in quasi la totalità dei casi alla diagnosi, mentre l'interessamento cardiaco è generalmente meno frequente e può comparire negli stadi avanzati di malattia. Per questo motivo, la sopravvivenza mediana nell'amiloidosi AA è generalmente migliore di quella osservata nell'amiloidosi AL o ATTR (superando in genere i 10 anni). Tuttavia, la progressione verso l'insufficienza renale terminale è frequente ed è una causa comune di comorbidità e ridotta qualità della vita (11). Qualsiasi condizione clinica che provoca un'inflammatione cronica con un aumento persistente della concentrazione di SAA può causare un'amiloidosi AA (Tabella 1). Nei paesi in via di sviluppo, questa forma di amiloidosi è spesso la complicanza di malattie infettive croniche (12, 13) mentre, nei paesi industrializzati era osservata più frequentemente nei pazienti con malattie reumatologiche, prima dell'avvento della terapia con farmaci biologici (14). Al momento, le

malattie autoinfiammatorie, alcuni tipi di neoplasia e l'obesità stanno emergendo come possibili condizioni alla base dell'amiloidosi AA (15-19). La terapia di questa forma di amiloidosi si basa sul trattamento della causa della flogosi per bloccare la produzione di SAA e ridurne la concentrazione (20).

L'assenza di sistemi di stadiazione convalidati per la stratificazione prognostica rende più difficile la gestione clinica dei pazienti con amiloidosi AA, così come la progettazione e conduzione di studi clinici. Tuttavia, nel corso degli ultimi anni, sono stati condotti diversi progetti di ricerca a livello internazionale nel tentativo di identificare dei biomarcatori prognostici nell'amiloidosi AA da utilizzare nella costruzione di sistemi di stadiazione.

In questa rassegna, ripercorreremo i principali studi che hanno valutato ed identificato dei biomarcatori prognostici nell'amiloidosi AA, così come i primi sistemi di stadiazione proposti in questa rara forma di amiloidosi sistemica.

Tabella 1

Patologie infiammatorie associate ad amiloidosi AA

Categorie	Patologie specifiche	
Artriti infiammatorie	Artrite reumatoide Spondilite anchilosante Malattia di Still dell'adulto	Artrite idiopatica giovanile Artrite psoriasica Gotta
Fattori predisponenti infezioni croniche	Fibrosi cistica Epidermiolisi bollosa Uso di stupefacenti per via endovenosa	Bypass digiuno-ileale Paraplegia
Immunodeficienze acquisite o ereditarie	Immunodeficienza comune variabile Ipo-gammaglobulinemia Agammaglobulinemia X-linked	Neutropenia ciclica HIV/AIDS
Malattie infettive croniche	Bronchiectasie Osteomielite Tubercolosi Pielonefrite cronica	Lebbra Malattia di Whipple Ulcere cutanee croniche HBV
Malattie infiammatorie croniche intestinali	Malattia di Crohn	Rettocolite ulcerosa
Malattie neoplastiche	Malattia di Castleman Linfoma di Hodgkin Macroglobulinemia di Waldenström Leucemia a cellule capellute Adenoma epatico	Carcinoma a cellule renali Adenocarcinoma del polmone Adenocarcinoma epatico Mesotelioma Sindrome di Schnitzler
Sindromi autoinfiammatorie ereditarie	FMF TRAPS Sindrome di Muckle-Wells	Sindrome NOMID/CINCA Sindrome da iper-IgD
Vasculiti sistemiche	Malattia di Bechet Poliarterite nodosa Arterite a cellule giganti	Arterite di Takayasu Polimialgia reumatica
Altro	Obesità Sarcoidosi	Sindrome SAPHO

SAPHO, sinovite, acne, pustolosi, iperostosi e osteite; HIV, virus dell'immunodeficienza umana; AIDS, sindrome da immunodeficienza acquisita; HBV, virus dell'epatite B; FMF, febbre mediterranea familiare; TRAPS, sindrome periodica associata al recettore del TNF; NOMID, malattia multinflammatoria ad esordio neonatale; CINCA, sindrome cronica infantile neurologica, cutanea ed articolare.

BIOMARCATORI PROGNOSTICI NELL'AMILOIDOSI AA

Il ruolo della concentrazione della SAA

La SAA è una proteina di fase acuta, prodotta prevalentemente dagli epatociti in seguito alla stimolazione di diverse citochine infiammatorie [Interleuchina 1 e 6 (IL-1, IL-6) e Tumor Necrosis Factor (TNF)], che svolge varie funzioni fisiologiche: ha un ruolo nella regolazione immunitaria, funge da opsonina nella fagocitosi batterica e modula il trasporto del colesterolo dai tessuti danneggiati (21). Nel corso di uno stato infiammatorio cronico, indipendentemente dalla causa, la concentrazione di SAA può aumentare fino a dei livelli soglia che rendono questa proteina più prona a depositarsi come fibrille di amiloide (22). Nel genoma umano, sono stati identificati quattro geni presenti sul cromosoma 11 che codificano diverse isoforme di SAA: due geni omologhi SAA1 e SAA2, lo pseudogene SAA3 ed il gene SAA4. I geni SAA1 e SAA2 codificano l'isoforma di SAA associata all'infiammazione, di cui il 70% è rappresentato dall'isoforma 1 (SAA1) (23,24). Sono state inoltre identificate cinque varianti alleliche di SAA1: SAA1.1, SAA1.2, SAA1.3, SAA1.4 e SAA1.5. Il processo di fibrillogenesi richiede un iniziale rimodellamento proteolitico della SAA, sebbene al momento non sia chiaro se questo avvenga prima o dopo il processo di alterato ripiegamento proteico, che sembra essere in parte favorito dai glicosaminoglicani e dall'interazione con altre proteine della matrice extracellulare (25-27). Come risultato, le fibrille di amiloide nell'amiloidosi AA risultano essere costituite esclusivamente dal frammento aminotermine della SAA. Non sono noti dei chiari fattori ambientali che rendono alcuni pazienti affetti da patologie infiammatorie croniche a maggior rischio di sviluppare un'amiloidosi AA. Tuttavia, il genotipo della SAA1 può predisporre lo sviluppo di amiloidosi AA in diversi gruppi etnici (28,29).

È noto che la concentrazione di SAA osservata nel corso della malattia ha un impatto sulla prognosi dei pazienti affetti da amiloidosi AA. Questo è stato osservato per la prima volta in uno studio condotto nel 2001 dai ricercatori del National Amyloidosis Center (NAC) di Londra, dove i pazienti con concentrazione di questo biomarcatore <10 mg/L avevano una migliore sopravvivenza mediana (sopravvivenza mediana stimata a 10 anni 90% *versus* 40%; $p=0,0009$). Nello stesso studio, è stato documentato che il mantenimento di una concentrazione di SAA <10 mg/L può associarsi ad una regressione dei depositi di amiloide negli organi colpiti, identificata mediante scintigrafia con siero amiloide P (SAP), una proteina che si trova all'interno dei depositi di amiloide, radiomarcata (30). La valutazione del valore prognostico della concentrazione di SAA è stato in seguito ulteriormente approfondito in uno studio più ampio, condotto dai medesimi ricercatori nel 2007 e comprendente 347 pazienti con amiloidosi AA (11). In questa casistica, il rischio relativo di morte nei pazienti con una concentrazione di SAA <4 mg/L (corrispondente all'ottile inferiore) era circa 18 volte inferiore a quello

osservato nei pazienti con concentrazioni di SAA >155 mg/L (corrispondente all'ottile più elevato). Per di più, anche una modesta elevazione della concentrazione di SAA (tra 4-9 mg/L; corrispondente al secondo ottile della casistica presentata) si correla con un aumentato rischio di mortalità (circa 4 volte superiore rispetto ai pazienti con una concentrazione di SAA <4 mg/L).

Nello stesso studio, è stato inoltre mostrato che la concentrazione di SAA è correlata anche con il rischio di progressione del danno d'organo e, in particolar modo, del danno renale. Di fatti, è stato dimostrato che ad ogni raddoppiamento della concentrazione di SAA il rischio relativo di progressione verso l'insufficienza renale terminale era 1,24 volte superiore [intervallo di confidenza al 95% (IC95%) 1,08-1,43; $p=0,002$] (11).

Misurazione della concentrazione plasmatica di SAA e sue criticità

I risultati degli studi fino ad ora citati evidenziano come i dati di concentrazione di proteina SAA possono costituire un importante elemento di ragionamento diagnostico e decisione clinica nell'ambito di una malattia rara come la amiloidosi AA. Altri possibili campi di applicazione clinica della misura, da quello in ambito oncologico a quello infettivologico, sono rimasti a livello di interesse di ricerca in studi clinici. La ridotta domanda della determinazione a scopo clinico condiziona la disponibilità di strumenti e reagenti dedicati alla sua misura.

In definitiva, per la necessità assistenziali possono essere utilizzati e sono disponibili commercialmente metodi ELISA. Questi possono avere il limite della certificazione d'uso "Research Use Only" ed essere privi di certificazione di dispositivi medico-diagnostici *in vitro* (IVD o IVDR). Questo comporta una limitata quantità e qualità delle informazioni disponibili agli utilizzatori, relativamente alle prestazioni analitiche del metodo, i valori di riferimento, la robustezza del saggio. La automazione di queste metodiche è inoltre problematica anche su strumenti aperti come dispensatori e lettori di micropiastre.

In aggiunta a questi, è disponibile un metodo nefelometrico adattato ad uno strumento automatico, costituendo quindi un sistema dotato di certificazione IVDR. E' ben noto che la disponibilità e produzione di nefelometri sono attualmente limitati secondo le tendenze odierne del mercato della diagnostica *in vitro*.

Dal punto di vista strettamente tecnico i due approcci analitici si distinguono per la possibilità di gestione del lavoro di routine, come tempi analitici dell'ordine dei 10 minuti per lo strumento in nefelometria ai 240 minuti e oltre per un metodo ELISA. Esiste una limitata quantità di dati e studi sul confronto tra questi metodi.

Altri biomarcatori

Biomarcatori prognostici per la sopravvivenza

Dallo studio dei ricercatori del NAC del 2007 sono emersi anche altri fattori prognostici per la sopravvivenza nell'amiloidosi AA, oltre alla già citata concentrazione di

SAA. In particolar modo, l'età avanzata [rischio relativo di morte per ogni decade di età aggiuntiva: 1,53; intervallo di confidenza al 95% (IC95%)1,34-1,74; p<0,001] e la presenza di insufficienza renale terminale (rischio relativo di morte: 2,97; IC95% 2,10-4,21; p<0,001) erano risultate entrambe correlate con un'aumentata mortalità. D'altra parte, dallo studio era emerso che i pazienti con una malattia autoinfiammatoria avevano una prognosi migliore (rischio relativo di morte: 0,36; IC95% 0,14-0,88; p<0,030) (11). Recentemente, uno studio condotto su 176 pazienti con amiloidosi AA ha confermato il ruolo prognostico dell'eGRF in questa forma di amiloidosi. In particolar modo, i pazienti con un eGFR <60 mL/min/1,73 m² avevano un'incidenza cumulativa di insufficienza renale terminale più elevata ed una peggiore sopravvivenza globale (31).

Un primo sistema di stadiazione per la sopravvivenza globale nell'amiloidosi AA è stato proposto dal nostro gruppo nel 2016, in occasione del XV Simposio Internazionale sull'amiloidosi, tenutosi ad Uppsala (Svezia). In questo studio, che comprendeva 200 pazienti con amiloidosi AA, l'analisi multivariata ha mostrato che l'età alla diagnosi (valore soglia: >55 anni; rischio relativo di morte: 22,3; IC95% 4,2-24,9; p<0,001), la presenza di malattie infettive croniche (rischio relativo di morte: 10,5; IC95% 2,4-21,0; p=0,001) e una velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) <45 mL/min/1,73 m² (rischio relativo di morte: 7,3; IC95% 1,5-14,3; p=0,013) erano associati ad una minore sopravvivenza. Questi fattori di rischio sono stati inclusi in un sistema di stadiazione in grado di identificare pazienti a basso rischio (con 0-1 fattori di rischio) ed a rischio elevato (con 2-3 fattori di rischio) (Tabella 2) (32).

Nel 2022, in occasione del XVIII Simposio Internazionale sull'amiloidosi, tenutosi ad Heidelberg (Germania), i ricercatori di Boston, hanno presentato uno studio che comprendeva 169 pazienti con diagnosi di amiloidosi AA ed hanno identificato come biomarcatori prognostici per la sopravvivenza la velocità di eritrosedimentazione (VES; valore soglia: >80 mm/ora

e l'eGFR (valore soglia: <25 mL/min/1,73 m²) (33). Questi due biomarcatori sono stati inseriti in un sistema di stadiazione, che si è dimostrato efficiente nell'identificare tre gruppi di pazienti con prognosi diversa alla diagnosi (Tabella 2). Recentemente, grazie ad una collaborazione tra il Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia e del Centro Amiloidosi di Heidelberg, sono stati raccolti dati su 476 pazienti con amiloidosi AA, con l'obiettivo specifico di identificare i fattori prognostici per la valutazione e convalida di sistemi di stadiazione. Il disegno dello studio prevedeva la presenza di una coorte di test (Pavia) e di una coorte di convalida (Heidelberg) (34). L'analisi multivariata condotta nella coorte di test aveva identificato come fattori prognostici per la sopravvivenza globale l'eGFR (valore soglia: <45 mL/min/1,73 m²; rischio relativo di morte: 3,47; IC95% 1,02-11,85; p=0,047), l'albuminemia (valore soglia: <30 g/L; rischio relativo di morte: 2,81; IC95% 1,21-6,53; p=0,017) e i peptidi natriuretici [peptide natriuretico di tipo B (BNP)] con valore soglia: >130 ng/L e/o frammento ammino-terminale del pro-peptide (NT-proBNP) con valore soglia: >1000 ng/L; rischio relativo di morte: 5,6; IC95% 2,2-14,3; p<0,001). Questi fattori di rischio sono stati utilizzati per disegnare un sistema di stadiazione per la sopravvivenza globale, assegnando un punteggio di 1 in caso di eGFR o albumina inferiori al valore soglia e un punteggio di 2 in presenza di NT-proBNP e/o BNP superiori al valore soglia. Il sistema di stadiazione ricavato in questo modo ha identificato tre gruppi di pazienti con prognosi significativamente diversa: pazienti a basso rischio (punteggio da 0 a 1: sopravvivenza stimata a 5 anni 84%), pazienti a rischio intermedio (punteggio da 2 a 3: sopravvivenza stimata a 5 anni 55%) e pazienti a rischio elevato (punteggio di 4: sopravvivenza stimata a 5 anni 12%) (Tabella 2). Questi risultati sono stati confermati quando il sistema di stadiazione è stato applicato nella coorte di convalida di Heidelberg.

Tabella 2

Sistemi di stadiazione per la sopravvivenza globale nell'amiloidosi AA

Sistema di stadiazione	Pavia 2016 (32)*	Boston 2022 (33)	Pavia-Heidelberg 2023 (34)**
Fattori di rischio	Età >55 anni Malattie infettive croniche eGFR <45 mL/min/1,73 m ²	VES >80 mm/ora eGFR <25 mL/min/1,73 m ²	eGFR <45 mL/min/1,73 m ² (punteggio: 1) Albumina <30 g/L (punteggio: 1) Peptidi natriuretici elevati*** (punteggio: 2)
Stadi	I. 0-1 fattori di rischio II. 2-3 fattori di rischio	I. 0 fattori di rischio II. 1 fattore di rischio III. 2 fattori di rischio	I. Punteggio 1-2 II. Punteggio 2-3 III. Punteggio 4
Sopravvivenza globale	I. mediana non raggiunta II. mediana 5,7 anni	I. mediana 11,9 anni II. mediana 6,9 anni III. mediana 4,8 anni	I. mediana non raggiunta II. mediana non raggiunta III. mediana 2,2 anni

*Follow-up mediano: 4,4 anni

**Follow up mediano: 5,6 anni

***NT-proBNP >1000 ng/L and/or BNP >130 ng/L

VES, velocità di eritrosedimentazione; eGFR, velocità di filtrazione glomerulare stimata.

Biomarcatori prognostici per il danno renale

Lo studio dei ricercatori del NAC del 2007 ha mostrato un aumento del rischio di progressione verso l'insufficienza renale per ogni raddoppiamento della concentrazione della creatinina (rischio relativo: 5,04; IC95% 2,47-10,30; $p < 0,001$). Altri fattori di rischio per la progressione del danno renale erano la presenza di amiloidosi epatica (rischio relativo: 1,98; IC95% 1,02-3,82; $p < 0,04$), di malattia di Crohn (rischio relativo: 4,14; IC95% 1,32-2,95; $p < 0,001$) e di malattie infettive croniche (rischio relativo: 4,04; IC95% 1,49-0,78; $p < 0,001$) (11).

Il lavoro condotto dal nostro gruppo nel 2016 ha documentato un rischio più elevato di progressione del danno renale nei pazienti con una proteinuria >4 g/24 ore (rischio relativo: 2,4; IC95% 1,2-4,8; $p = 0,008$) ed un eGFR <35 mL/min/1,73 m² (rischio relativo: 3,4; IC95% 1,6-7,0; $p = 0,013$). Inseriti all'interno di un sistema di stadiazione per il danno renale, questi due biomarcatori si sono dimostrati in grado di identificare tre gruppi di pazienti con un rischio progressivamente più elevato di progressione verso l'insufficienza renale terminale (32). Questo sistema di stadiazione è stato in seguito raffinato nel corso dello studio collaborativo tra il Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia e del Centro Amiloidosi di Heidelberg (34). L'analisi multivariata per la ricerca di fattori prognostici per la progressione del danno renale, condotta nella coorte di Pavia ($n = 233$ pazienti) ha confermato il ruolo prognostico negativo di un eGFR <35 mL/min/1,73 m² (rischio relativo: 3,69; IC95% 1,97-6,91; $p < 0,001$), così come quello della proteinuria delle 24 ore, sebbene con un valore soglia differente rispetto allo studio del 2016 (valore soglia: >3 g/24 ore; rischio relativo: 2,36; IC95% 1,28-4,32; $p = 0,006$). Anche in questo caso, questi fattori di rischio, inseriti in un sistema di stadiazione, hanno identificato tre gruppi con rischio progressivamente più elevato di progressione del danno renale: pazienti a basso rischio (0 fattori di rischio: incidenza cumulativa di insufficienza renale terminale stimata a 5 anni 5%), pazienti a rischio intermedio (1 fattore di rischio: incidenza cumulativa di insufficienza renale terminale stimata a 5 anni 32%) e pazienti a rischio elevato (2 fattori di rischio: incidenza cumulativa di insufficienza renale terminale stimata a 5 anni 70%) (Tabella 3). Risultati simili sono stati osservati quando questo sistema di stadiazione del danno renale è stato impiegato nella coorte di convalida di Heidelberg.

Tabella 3

Sistema di stadiazione convalidato per il danno renale nell'amiloidosi AA

Sistema di stadiazione	Pavia-Heidelberg 2023 (34)
Fattori di rischio	Proteinuria >3 g/24 ore eGFR <35 mL/min/1,73 m ²
Stadi	I. 0 fattori di rischio II. 1 fattore di rischio III. 2 fattori di rischio
Tempo mediano all'inizio della dialisi	I. mediana 16,5 anni II. mediana 8,9 anni III. mediana 2,7 anni

eGFR, velocità di filtrazione glomerulare stimata

DISCUSSIONE

Nel corso degli ultimi venti anni, diversi studi condotti a livello internazionale hanno consentito di definire il valore prognostico dei biomarcatori nell'amiloidosi AA. I risultati ottenuti hanno consentito di modificare progressivamente la gestione clinica dei pazienti con questa rara forma di amiloidosi sistemica, grazie alle informazioni fornite dal laboratorio di biochimica clinica.

Valori soglia di SAA nella gestione clinica dei pazienti e della terapia

Gli studi condotti dai ricercatori del NAC hanno mostrato che la concentrazione della SAA correla con la cinetica dei depositi di amiloide e, di conseguenza, con la progressione della malattia ed il rischio di mortalità (11,30). In particolar modo, è stato osservato che il mantenimento di concentrazioni molto basse di questo marcatore (SAA <10 mg/L) si traduce in una migliore sopravvivenza ed in un minor rischio di progressione del danno d'organo. Questi dati sono stati confermati anche nella casistica del Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche di Pavia (32). Pertanto, nella pratica clinica, è raccomandato un monitoraggio periodico (almeno bimestrale) della concentrazione di SAA. Nei pazienti in trattamento per la patologia responsabile dello stato flogistico cronico, il riscontro di una concentrazione di SAA >10 mg/L indica un controllo sub-ottimale dell'infiammazione e richiede di considerare la possibilità di modificare la terapia specifica sotto supervisione specialistica.

Sistemi di stadiazione nella gestione clinica dei pazienti

I sistemi di stadiazione basati sui biomarcatori hanno portato ad un profondo cambiamento nella gestione clinica dei pazienti affetti da amiloidosi AL e ATTR (3-10), dando la possibilità di identificare con precisione i pazienti con uno stadio iniziale di malattia, così come quelli ad alto rischio. Al momento, questi sistemi di stadiazione sono utilizzati per la decisione della strategia terapeutica, la programmazione dei controlli e il disegno di studi clinici (35). Data la rarità dell'amiloidosi AA, lo studio dei biomarcatori prognostici è stato molto più lento in questa patologia, rendendo più complicata la gestione clinica dei pazienti e rallentando in parte lo sviluppo di nuovi studi.

Lo studio collaborativo tra i ricercatori di Pavia e di Heidelberg, ha consentito di identificare e di convalidare un sistema di stadiazione per la sopravvivenza globale, identificato nella popolazione di Pavia e convalidato in quella di Heidelberg, basato su eGFR, albumina sierica e peptidi natriuretici (NT-proBNP e/o BNP). Lo stesso studio ha consentito inoltre di convalidare un sistema di stadiazione per la sopravvivenza renale basato sulla proteinuria delle 24 ore e l'eGFR (34).

Questi sistemi di stadiazione convalidati per la sopravvivenza globale e per il danno renale si sono dimostrati in grado di identificare pazienti con una

malattia in stadio iniziale con una prognosi eccellente ed un piccolo gruppo con un'amiloidosi AA in stadio avanzato, caratterizzato da un danno d'organo non reversibile ed una prognosi infausta. In entrambi i casi, questi gruppi rappresentano circa il 20% dei pazienti con amiloidosi AA alla diagnosi, similmente a quanto osservato con i sistemi di stadiazione in uso in altre forme di amiloidosi sistemica (6,7,36). Pertanto, questi sistemi di stadiazione costituiscono uno strumento utile per programmare la gestione clinica ed il monitoraggio dei pazienti con amiloidosi AA, in particolar modo per i pazienti in stadio avanzato, che richiedono un programma di controlli più stretto. Inoltre, il fatto che i pazienti in stadio iniziale abbiano un'ottima prognosi in termini di sopravvivenza e conservazione della funzionalità renale, supporta la necessità di diagnosticare precocemente questa forma di amiloidosi sistemica. Nell'amiloidosi AL, al fine di raggiungere questo obiettivo, è stato proposto un programma di screening basato sui biomarcatori di danno d'organo nei pazienti con gammopatia monoclonale di significato indeterminato (37,38). È ragionevole pensare che questo approccio possa anche essere impiegato nell'amiloidosi AA. Al momento, non vi sono evidenze che suggeriscano l'utilità di misurazioni periodiche della concentrazione di SAA in pazienti con patologie che possono causare una flogosi cronica, allo scopo di effettuare una diagnosi precoce di amiloidosi AA. Da questo punto di vista, potrebbe essere più utile un monitoraggio periodico della proteinuria totale o dell'albuminuria per identificare un sospetto iniziale coinvolgimento renale.

I fattori prognostici identificati per la sopravvivenza globale e per il danno renale nell'amiloidosi AL sono prevalentemente biomarcatori cardiaci e renali. Questo rappresenta un ulteriore punto in comune con i sistemi di stadiazione impiegato nell'amiloidosi AL e ATTR. La severità del danno renale (valutata con l'eGFR) ha un ruolo principale nel predire sia la sopravvivenza globale che la progressione verso l'insufficienza renale terminale. L'albuminemia rispecchia sia la gravità del danno renale glomerulare, sia l'entità dell'infiammazione cronica. Inoltre, i peptidi natriuretici NT-proBNP e BNP identificano i pazienti con un coinvolgimento cardiaco, così come quelli con altre patologie cardiovascolari, che sono frequenti nell'amiloidosi AA (39). A questo proposito, è importante ricordare che questi due peptidi natriuretici sono scarsamente confrontabili tra loro e che è raccomandabile utilizzare sempre il medesimo biomarcatore nel monitoraggio di questi pazienti. Rispetto all'amiloidosi AL, dove sono stati condotti ampi studi che hanno identificato valori soglia distinti di NT-proBNP e BNP per la gestione clinica dei pazienti (3-5,40,41), i dati che possano orientare la scelta su uno di questi due biomarcatori nell'amiloidosi AA è limitata per la rarità di questa patologia e la scarsità di dati in merito. Tuttavia, è ragionevole pensare che, come già documentato nell'amiloidosi AL, l'utilizzo del BNP sia preferibile nei pazienti con insufficienza renale terminale (42). In ultimo, la proteinuria delle 24 ore è emersa come un biomarcatore prognostico per il rischio di progressione renale nell'amiloidosi AA, così come nell'amiloidosi AL.

CONCLUSIONI

L'amiloidosi AA è una forma di amiloidosi sistemica che per molti anni è rimasta orfana di studi clinici, in particolar modo per quanto riguarda l'identificazione di biomarcatori prognostici da impiegare in sistemi di stadiazione. Tuttavia, alcuni studi hanno recentemente contribuito a colmare questa lacuna, portando, recentemente alla proposta dei primi sistemi di stadiazione convalidati per la sopravvivenza globale ed il danno renale nell'amiloidosi AA. Così come è accaduto in precedenza per l'amiloidosi AL e ATTR, ci si aspetta che l'introduzione di questi nuovi sistemi di stadiazione porti ad una profonda modifica nella gestione clinica dei pazienti con amiloidosi AA. Inoltre, è auspicabile che la disponibilità di questi strumenti possa favorire nuovi studi clinici ed osservazionali in questa rara forma di amiloidosi sistemica. In questo contesto, il Laboratorio di Biochimica Clinica conferma il suo ruolo centrale nella gestione clinica delle amiloidosi sistemiche e funge da perno in questo nuovo capitolo sull'amiloidosi AA. A completamento delle osservazioni fino ad ora riportate, ci auguriamo che la continuità scientifica, sotto l'egida dell'International Society of Amyloidosis (ISA), continui a promuovere studi sui biomarcatori nell'amiloidosi AA, in particolar modo per identificare e convalidare dei criteri di risposta renale, che consentano di identificare l'obiettivo terapeutico in questa patologia. Questo tipo di studi riveste un ruolo ancora più importante, se si considerano le profonde modifiche nell'epidemiologia dell'amiloidosi AA dall'avvento di nuove terapie efficaci per le patologie reumatologiche e l'emergenza di casi secondari a cause di infiammazione cronica più difficili da identificare e trattare (14).

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

1. Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. *Lancet* 2016;387:2641-54.
2. Buxbaum JN, Dispenzieri A, Eisenberg DS, Fändrich M, Merlini G, Saraiva MJM, et al. Amyloid nomenclature 2022: update, novel proteins, and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) Nomenclature Committee. *Amyloid* 2022;29:213-9.
3. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, Burritt MF, Therneau TM, 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.
4. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Colby C, et al. Revised prognostic staging system for light chain amyloidosis incorporating cardiac biomarkers and serum free light chain measurements. *J Clin Oncol* 2012;30:989-95.
5. Wechalekar AD, Schonland SO, Kastritis E, Gillmore JD, Dimopoulos MA, Lane T, et al. A European collaborative study of treatment outcomes in 346 patients with cardiac stage III AL amyloidosis. *Blood* 2013;121:3420-7.

6. Grogan M, Scott CG, Kyle RA, Zeldenrust SR, Gertz MA, Lin G, et al. Natural history of wild-type transthyretin cardiac amyloidosis and risk stratification using a novel staging system. *J Am Coll Cardiol* 2016;68:1014-20.
7. Gillmore JD, Damy T, Fontana M, Hutchinson M, Lachmann HJ, Martinez-Naharro A, et al. A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J* 2018;39:2799-806.
8. Palladini G, Hegenbart U, Milani P, Kimmich C, Foli A, Ho AD, et al. A staging system for renal outcome and early markers of renal response to chemotherapy in AL amyloidosis. *Blood* 2014;124:2325-32.
9. Visram A, Al Saleh AS, Parmar H, McDonald JS, Lieske JC, Vaxman I, 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.
10. Basset M, Milani P, Ferretti VV, Nuvolone M, Foli A, Benigna F, et al. Prospective urinary albumin/creatinine ratio for diagnosis, staging, and organ response assessment in renal AL amyloidosis: results from a large cohort of patients. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:386-93.
11. Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, Gallimore JR, Sabin CA, Gillmore JD, et al. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007;356:2361-71.
12. Khellaf G, Benziane A, Kaci L, Benabadiji M. AA renal amyloidosis: Clinical observations over 20 years. *Clin Nephrol* 2022;97:167-72.
13. Engineer DP, Kute VB, Patel HV, Shah PR. Clinical and laboratory profile of renal amyloidosis: A single-center experience. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2018;29:1065-72.
14. Lane T, Pinney JH, Gilbertson JA, Hutt DF, Rowczenio DM, Mahmood S, et al. Changing epidemiology of AA amyloidosis: clinical observations over 25 years at a single national referral centre. *Amyloid* 2017;24:162-6.
15. Obici L, Merlini G. Amyloidosis in autoinflammatory syndromes. *Autoimmun Rev* 2012;12:14-7.
16. Ihne S, Kircher M, Papagianni A, Goetze O, Morbach C, Werner RA, et al. AA amyloidosis in inflammatory active malignant paraganglioma. *Amyloid* 2022;29:137-8.
17. Blank N, Hegenbart U, Dietrich S, Brune M, Beimler J, Röcken C, et al. Obesity is a significant susceptibility factor for idiopathic AA amyloidosis. *Amyloid* 2018;25:37-45.
18. Papa R, Lachmann HJ. Secondary, AA, Amyloidosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2018;44:585-603.
19. Lachmann HJ, Gilbertson JA, Gillmore JD, Hawkins PN, Pepys MB. Unicentric Castleman's disease complicated by systemic AA amyloidosis: a curable disease. *QJM* 2002;95:211-8.
20. Karam S, Haidous M, Royal V, Leung N. Renal AA amyloidosis: presentation, diagnosis, and current therapeutic options: a review. *Kidney Int* 2023;103:473-84.
21. Westermark GT, Fändrich M, Westermark P. AA amyloidosis: pathogenesis and targeted therapy. *Annu Rev Pathol* 2015;10:321-44.
22. Obici L, Merlini G. AA amyloidosis: basic knowledge, unmet needs and future treatments. *Swiss Med Wkly* 2012;142:w13580.
23. Jensen LE, Whitehead AS. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J* 1998;334:489-503.
24. Dwulet FE, Wallace DK, Benson MD. Amino acid structures of multiple forms of amyloid-related serum protein SAA from a single individual. *Biochemistry* 1988;27:1677-82.
25. Stix B, Kähne T, Sletten K, Raynes J, Roessner A, Röcken C. Proteolysis of AA amyloid fibril proteins by matrix metalloproteinases-1, -2, and -3. *Am J Pathol* 2001;159:561-70.
26. van der Hilst JC, Yamada T, Op den Camp HJ, van der Meer JW, Drenth JP, Simon A. 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.
27. Li JP, Galvis ML, Gong F, Zhang X, Zcharia E, Metzger S, et al. *In vivo* fragmentation of heparan sulfate by heparanase overexpression renders mice resistant to amyloid protein A amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:6473-7.
28. Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Baba S, Shono M. Significance of SAA1.3 allele genotype in Japanese patients with amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:43-9.
29. van der Hilst JC. Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* 2011;11:641-50.
30. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Pepys MB, Hawkins PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001;358:24-9.
31. Bektas M, Koca N, Oguz E, Sari S, Dagci G, Ince B, et al. Characteristics and course of patients with AA Amyloidosis: single center experience with 174 patients from Turkey. *Rheumatology (Oxford)*. 2023.
32. Palladini G, Riva E, Basset M, Russo F, Milani P, Pasquinucci E, et al. Prognostication of survival and progression to dialysis in AA amyloidosis. *Amyloid* 2017;24:136-7.
33. Joshi T, Gustine J, Staron A, Akar H, Mendelson L, Libbey C, et al. Natural history and risk stratification of AA amyloidosis based on a 40-year experience in the United States. XVIII International Symposium on Amyloidosis 2022. https://www.isaheidelberg2022.org/wp-content/uploads/sites/24/20220902_ISA22_Abstract-Book_final.pdf
34. Basset M, Schönland S, Obici L, Gunther J, Riva E, Dittrich T, et al. An European collaborative study on 476 patients with AA amyloidosis: identification and validation of survival and renal staging systems. XVIII International Symposium on Amyloidosis 2022. https://www.isaheidelberg2022.org/wp-content/uploads/sites/24/20220902_ISA22_Abstract-Book_final.pdf
35. Wechalekar AD, Cibeira MT, Gibbs SD, Jaccard A, Kumar S, Merlini G, et al. Guidelines for non-transplant chemotherapy for treatment of systemic AL amyloidosis: EHA-ISA working group. *Amyloid* 2023;30:3-17.
36. Dittrich T, Kimmich C, Hegenbart U, Schönland SO. Prognosis and staging of AL amyloidosis. *Acta Haematol* 2020;143:388-400.
37. Merlini G, Palladini G. Differential diagnosis of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:595-603.
38. Mangiacavalli S, Milani P, Cartia C, Benvenuti P, Palumbo M, Basset M, et al. Pre-symptomatic diagnosis of systemic AL amyloidosis by biomarker based screening in patients with MGUS. XVIII International Symposium on Amyloidosis 2022. https://www.isaheidelberg2022.org/wp-content/uploads/sites/24/20220902_ISA22_Abstract-Book_final.pdf
39. Romano M, Piskin D, Berard RA, Jackson BC, Acikel C, Carrero JJ, et al. Cardiovascular disease risk assessment in patients with familial Mediterranean fever related renal amyloidosis. *Sci Rep* 2020;10:18374.
40. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, Wechalekar A, Hawkins PN, 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.

41. Lillenes B, Ruberg FL, Mussinelli R, Doros G, Sancharawala V. Development and validation of a survival staging system incorporating BNP in patients with light chain amyloidosis. *Blood* 2019;133:215-23.
42. Palladini G, Foli A, Milani P, Russo P, Albertini R, Lavatelli F, et al. Best use of cardiac biomarkers in patients with AL amyloidosis and renal failure. *Am J Hematol* 2012;87:465-71.