



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΝΟΣ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΤΕΛΕΣΗ»**

**MSc: “Clinical Trials: Design and Conduct”**

**Διευθυντής Ευάγγελος Τέρπος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ**

***«Γονιδιακή θεραπεία σε ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση από τρανσθυρετίνη: Τα  
φάρμακα patisiran και inotersen»***

***(Gene silencing therapy in patients with hereditary transthyretin amyloidosis : Patisiran  
and inotersen drugs)***

Όνομα: Αλεξάνδρα Φύτου

Αρ. μητρώου: 20180684

Επάγγελμα/ή Ιδιότητα: Clinical Research Associate - Βιολόγος

Επιβλέπων καθηγητής ΜΔΕ:

Αν. Καθηγητής Θεραπευτικής - Παθολογίας/Ογκολογίας Ευστάθιος Καστρίτης

**ΑΘΗΝΑ 2020**



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΝΟΣ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΤΕΛΕΣΗ»**

**MSc: “Clinical Trials: Design and Conduct”**

**Διευθυντής Ευάγγελος Τέρπος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ**

***«Γονιδιακή θεραπεία σε ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση από τρανσθυρετίνη: Τα φάρμακα patisiran και inotersen»***

***(Gene silencing therapy in patients with hereditary transthyretin amyloidosis : Patisiran and inotersen drugs)***

Όνομα: Αλεξάνδρα Φύτου

Αρ. μητρώου: 20180684

Επάγγελμα/ή Ιδιότητα: Clinical Research Associate - Βιολόγος

**Τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής**

Αν. Καθηγητής Θεραπευτικής - Παθολογίας/Ογκολογίας Ευστάθιος Καστρίτης

Επιβλέπων

Καθηγητής Αιματολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ Ευάγγελος Τέρπος,

Αν. Καθηγήτρια Φλώρα Ζαγουρή

**ΑΘΗΝΑ 2020**



# Γονιδιακή θεραπεία σε ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης: Τα φάρμακα patisiran και inotersen

---

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	6
Abstract .....	7
1. Εισαγωγή .....	8
1.1. Αμυλοείδωση .....	8
1.2 Αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης.....	9
1.2. Τρανσθυρετίνη (TTR) και παθολογική αναδίπλωση.....	10
1.3. Κληρονομική αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης .....	11
2. Αμυλοείδωση .....	12
2.1. Τα αμυλοειδή και τα αμυλοειδή ινίδια .....	12
2.1.1. Σχηματισμός ινιδίου αμυλοειδούς .....	14
2.1.2. Αμυλοειδή μόρια.....	15
2.1.3. Παθογένεια του αμυλοειδούς.....	16
2.1.4. Επιδημιολογία της αμυλοείδωσης .....	16
2.2. Τύποι και κλινικά χαρακτηριστικά των συστηματικών αμυλοειδώσεων .....	17
2.3. Διάγνωση αμυλοείδωσης .....	19
2.4. Θεραπεία της αμυλοείδωσης .....	22
3. Αμυλοείδωση απο τρανσθυρετίνη .....	24
3.1. Τρανσθυρετίνη.....	24
3.2. Οι λειτουργίες της τρανσθυρετίνης .....	24

3.3. Τύποι αμυλοείδωσης από τρανσθυρετίνη.....	27
3.3.1. Αμυλοείδωση ATTR (μη κληρονομούμενη άγριου τύπου, μη μεταλλαγμένη TTR). 27	
3.3.2. Κληρονομική συστηματική αμυλοείδωση ATTR .....	28
3.3.3. Θεραπεία της αμυλοείδωσης ATTR.....	31
3.4. Τα ινίδια αμυλοειδούς τρανσθυρετίνης .....	32
4. Η μελέτη των φαρμάκων patisiran και inotersen.....	35
4.1. Εισαγωγή .....	35
4.2. Πληροφορίες από συζητήσεις με ασθενείς και ομάδες ασθενών .....	36
4.3. Συγκριτική κλινική αποτελεσματικότητα .....	37
4.3.1. Inotersen.....	37
4.3.2. Patisiran.....	41
5. Συμπεράσματα .....	51
6. Βιβλιογραφία .....	52

## Περίληψη

Η κληρονομική αμυλοείδωση αντιπροσωπεύει μια ομάδα ασθενειών στις οποίες μεταλλαγμένες πρωτεΐνες εναποτίθενται σε διάφορα όργανα που οδηγούν στη δυσλειτουργία τους. Η σωστή αναγνώριση της πρωτεΐνης που προκαλεί αμυλοείδωση είναι κρίσιμη επειδή είναι αυτό το οποίο θα καθορίσει τη βέλτιστη θεραπεία για τον εκάστοτε ασθενή. Ο πιο κοινός τύπος κληρονομικής αμυλοείδωσης οφείλεται στην εναπόθεση μεταλλαγμένης τρανσυρετίνης (ATTRm) και συχνά παρουσιάζεται με καρδιακή ανεπάρκεια ή περιφερική νευροπάθεια. Η αμυλοείδωση της τρανσυρετίνης (ATTRm) είναι μια προοδευτική και τελικά θανατηφόρα ασθένεια που χαρακτηρίζεται κυρίως από αισθητηριακή, κινητική και αυτόνομη νευροπάθεια ή / και καρδιομυοπάθεια. Δεδομένης της φαινοτυπικά απρόβλεπτης μεταβλητότητάς της, η αμυλοείδωση της τρανσυρετίνης μπορεί να είναι δύσκολο να αναγνωριστεί και να αντιμετωπιστεί. Η λανθασμένη διάγνωση είναι συχνή και οι ασθενείς μπορεί να περιμένουν αρκετά χρόνια πριν από την ακριβή διάγνωση, διακινδυνεύοντας επιπλέον σημαντική μη αναστρέψιμη επιδείνωση. Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο να γίνει κατανοητή η αμυλοείδωση της τρανσυρετίνης ως ασθένεια και πιο συγκεκριμένα η κληρονομικότητα της ασθένειας καθώς και οι τρόποι αντιμετώπισής της ειδικότερα με τα φάρμακα patisiran και inotersen για τα οποία γίνεται ανάλυση και επισκόπηση των μελετών και των αποτελεσμάτων που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα.

**Λέξεις-κλειδιά:** Αμυλοείδωση, Πολυνευροπάθεια, Καρδιομυοπάθεια, Τρανσυρετίνη, patisiran, inotersen

## **Abstract**

Hereditary amyloidosis represents a group of diseases in which mutated proteins are deposited in various organs leading to their dysfunction. Proper identification of the protein that causes amyloidosis is critical because it is what will determine the optimal treatment for each patient. The most common type of inherited amyloidosis is due to the deposition of mutant transthyretin (ATTRm) and often presents with heart failure or peripheral neuropathy. Amyloidosis of transthyretin (ATTRm) is a progressive and ultimately fatal disease characterized mainly by sensory, motor and autonomic neuropathy and / or cardiomyopathy. Given its phenotypic unpredictable variability, transthyretin amyloidosis can be difficult to identify and treat. Misdiagnosis and mistreatment is common and patients could possibly wait several years before an accurate diagnosis, further risking significant irreversible deterioration. The aim of the present study is to understand the amyloidosis of transthyretin as a disease and more specifically the heredity of the disease as well as the ways of its treatment especially with the drugs patisiran and inotersen for which studies and results until the present day have been analyzed and reviewed.

**Keywords:** Amyloidosis, Polyneuropathy, Cardiomyopathy, Transthyretin, patisiran, inotersen

# 1. Εισαγωγή

## 1.1. Αμυλοείδωση

Οι βιολογικές λειτουργίες των πρωτεϊνών συνδέονται άμεσα με τις τρισδιάστατες δομές τους. Κανονικά, οι εσφαλμένα διπλωμένες πρωτεΐνες προκαλούν πολύπλοκες βιολογικές αποκρίσεις προκαλώντας την αποδόμηση τέτοιων πρωτεϊνών. Ωστόσο, η αποτυχία αυτών των συστημάτων μπορεί να προκαλέσει απώλεια της πρωτεϊνικής λειτουργίας ή υπερβολική αφθονία και συσσωμάτωση λανθασμένων πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα διαταραχές πρωτεΐνης. Οι αμυλοειδώσεις αντιπροσωπεύουν τη μεγαλύτερη ομάδα ασθενειών που παρουσιάζουν παθολογική/διαταραγμένη αναδίπλωση, όπου συγκεκριμένες πρωτεΐνες μετατρέπονται από τη διαλυτή λειτουργική τους κατάσταση σε αμυλοειδές, ένα εξαιρετικά οργανωμένο αδιάλυτο ινώδες υλικό, που αποτίθεται σε εξωκυτταρικούς χώρους προκαλώντας τη διακοπή της δομής και της λειτουργίας του ιστού (Benson, Dasgupta & Monia, 2019). Αυτά τα δύο μπορούν περαιτέρω να ομαδοποιηθούν σε επίκτητες ή κληρονομικές αμυλοειδώσεις. Η επίκτητη αμυλοείδωση είναι συχνά επιπλοκή προϋπάρχουσας πρωτοπαθούς νόσου που παράγει μια αμυλοειδογόνο ανώμαλη πρωτεΐνη (π.χ. ελαφρές αλυσίδες μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης (L) στην αμυλοείδωση AL) ή παρατεταμένη παραγωγή μιας κανονικής πρωτεΐνης που μπορεί να μετατραπεί σε αμυλοειδές (π.χ. πρωτεΐνη αμυλοειδούς A του ορού (SAA) σε αμυλοείδωση AA). Η κληρονομική αμυλοείδωση προκαλείται από μεταλλαγμένα γονίδια που κωδικοποιούν παραλλαγές πρωτεϊνών των οποίων η δομή τους τις καθιστά ιδιαίτερα αμυλοειδογόνες (π.χ. μεταλλάξεις στο γονίδιο transthyretin (TTR) στην αμυλοείδωση (ATTR) (Karoor et al., 2019). Στην αμυλοείδωση, η παρουσία εναποθέσεων αμυλοειδούς είναι η αιτία των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου. Η πρωτεΐνη του αμυλοειδές που αναδύεται συνοδεύει επίσης άλλες ασθένειες, παραδείγματος χάριν, ένα β πεπτίδιο μέσα στον εγκέφαλο της νόσου του Alzheimer, το πολυπεπτίδιο αμυλοειδών νησιδίων (IAPP) στα παγκρεατικά νησίδια του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 Langerhans, αλλά αυτά δεν ταξινομούνται ως αμυλοείδωση, επειδή δεν αποδεικνύεται ότι το αμυλοειδές προκαλεί τις ασθένειες αυτές (Gales, 2019).



## 1.2 Αμυλοείδωση τρανσθυτερίνης

Η κληρονομούμενη αμυλοείδωση TTR<sup>1</sup> (τρανσθυτερίνη) είναι μια συστηματική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την εξωκυτταρική εναπόθεση των αμυλοειδών ινιδίων που αποτελούνται από TTR, μια πρωτεΐνη μεταφοράς πλάσματος για την θυροξίνη και τη βιταμίνη Α που παράγεται κυρίως από το ήπαρ. Η TTR μπορεί να αποσυνδεθεί από τη φυσική της μορφή τετραμερούς, μετά να ξεδιπλωθεί και να συσσωματωθεί σε αμυλοειδή ινίδια που συσσωρεύονται σε διάφορα όργανα και ιστούς, προκαλώντας προοδευτική δυσλειτουργία. Η αμυλοείδωση TTR είναι η πιο κοινή μορφή κληρονομικής (οικογενειακής) αμυλοείδωσης και προκαλείται από μεταλλάξεις που αποσταθεροποιούν την πρωτεΐνη TTR. Η αμυλοείδωση TTR περιλαμβάνει επίσης μια αμυλοείδωση που σχετίζεται με την ηλικία, γνωστή ως γεροντική συστηματική αμυλοείδωση, μια επίκτητη διαταραχή που προσβάλλει κυρίως άνδρες μετά την ηλικία των 60 ετών, που προκύπτει από την εναπόθεση αμυλοειδούς άγριου τύπου TTR (Benson et al., 2018).

Η αμυλοείδωση TTR μπορεί να παρουσιαστεί ως προοδευτική, αξονική αισθητική αυτόνομη και κινητική νευροπάθεια (οικογενειακή αμυλοειδής πολυνευροπάθεια, TTR-FAP, επίσης γνωστή ως FAP ή ATTR-PN) ή ως διηθητική καρδιομυοπάθεια (οικογενειακή αμυλοειδής καρδιομυοπάθεια). Η αμυλοείδωση TTR, συμπεριλαμβανομένου του TTR-FAP, εμφανίζεται σε πολλές διαφορετικές μορφές, με σημαντική φαινοτυπική διακύμανση μεταξύ ατόμων και γεωγραφικών τοποθεσιών. Η διάγνωση μπορεί να είναι δύσκολη και η θεραπεία απαιτεί συχνά μια διεπιστημονική προσέγγιση. Οι γιατροί που είναι πιθανό να διαγνώσουν και να θεραπεύσουν ασθενείς που πάσχουν από την ασθένεια αυτή περιλαμβάνουν νευρολόγους, καρδιολόγους, γαστρεντερολόγους, οφθαλμιάτρους και άλλους ειδικούς (Kristen et al., 2019).

Οι αμυλοειδώσεις είναι μια ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζονται από εξωκυτταρική εναπόθεση δομικά τροποποιημένων πρωτεϊνών σε όργανα και ιστούς. Οι ασθένειες ταξινομούνται από τη φύση της πρόδρομης πρωτεΐνης που σχηματίζει τα αμυλοειδή ινίδια και προς το παρόν, τουλάχιστον 30 διαφορετικές πρόδρομες πρωτεΐνες θα μπορούσαν να προκαλέσουν αμυλοειδικές ασθένειες. Οι ασθένειες του αμυλοειδούς συμβαίνουν συστηματικά ή εντοπίζονται σε ένα όργανο ή ιστό και είτε κληρονομούνται είτε αποκτώνται. Το αμυλοειδές

---

<sup>1</sup> transports thyroxine and retinol

έχει ορισμένα χαρακτηριστικά συλλογικότητας για όλες τις πρόδρομες πρωτεΐνες, όπως ότι είναι αδιάλυτο και έχει ινώδη υπερδομή, η οποία μετά από χρώση με ερυθρό του Κονγκό δείχνει μια διπλή διάθλαση στο πολωμένο φως (Adams et al., 2018).

Η πιο διαδεδομένη αμυλοειδής νόσος είναι η αορτική μεσογειακή αμυλοείδωση (medin), που υπάρχει στα τοιχώματα των θωρακικών αρτηριών συνήθως σε άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών. Μεταξύ των ασθενειών που χαρακτηρίζονται από τοπική εναπόθεση αμυλοειδούς, η νόσος του Alzheimer είναι ίσως η πιο γνωστή. Οι ασθένειες Prion όπως το Creutzfeldt-Jacob χαρακτηρίζονται επίσης από τοπικές εναποθέσεις τύπου αμυλοειδούς. Η αμυλοειδής ελαφριά αλυσίδα (AL), που προκαλείται από τη δυσκρασία των κυττάρων πλάσματος, είναι μια επίκτητη ασθένεια που υπάρχει τόσο σε τοπικές όσο και σε συστηματικές μορφές (Mickle et al., 2019). Η συστηματική μορφή της αμυλοείδωσης AL επηρεάζει οποιοδήποτε μέρος του σώματος εκτός από τον εγκέφαλο, και συχνά περιλαμβάνει τα νεφρά και την καρδιά. Στις κληρονομικές συστηματικές αμυλοειδώσεις, οι γενετικά παραλλαγμένες πρόδρομες πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό αμυλοειδούς, που συνήθως προκαλούνται από μια μετάλλαξη στο γονίδιο για την πρωτεΐνη τρανσυρετίνη. Απολιποπρωτεΐνες AI και AII, ινωδογόνο A και γελσολίνη, είναι άλλες πρωτεΐνες υπεύθυνες για κληρονομική αμυλοείδωση. Η συστηματική αμυλοείδωση μπορεί επίσης να εμφανιστεί δευτερογενώς από μακροχρόνιες χρόνιες λοιμώξεις και φλεγμονώδεις ασθένειες όπως η νόσος του Crohn και η ρευματοειδής αρθρίτιδα και στη συνέχεια ονομάζεται αμυλοείδωση Αμυλοειδής Α (AA) (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019).

## **1.2. Τρανσθυρετίνη (TTR) και παθολογική αναδίπλωση**

Η τρανσθυρετίνη (TTR) είναι μια πρωτεΐνη πλάσματος που χρησιμεύει ως μόριο μεταφοράς για την θυροξίνη και έμμεσα για τη ρετινόλη. Η TTR είναι μια τετραμερική πρωτεΐνη, αποτελούμενη από τέσσερις ίδιες υπομονάδες όπου κάθε υπομονάδα αποτελείται από 127 υπολείμματα αμινοξέων. Η πρωτεΐνη συντίθεται κυρίως στο ήπαρ, αν και μικρές ποσότητες παράγονται επίσης στο χοριοειδές πλέγμα, το επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς χρωστικού του οφθαλμού και σε άλφα κύτταρα στα παγκρεατικά νησάκια του Langerhans (Vita et al., 2019). Η παραλλαγή TTR κυκλοφορεί από τη γέννηση σε ασθενείς που φέρουν τη γενετική μετάλλαξη, αλλά δεν διευκρινίζεται πλήρως ποιοι παράγοντες προκαλούν την έναρξη του σχηματισμού αμυλοειδούς και την έναρξη της νόσου. Ωστόσο, είναι γενικά αποδεκτό ότι οι περισσότερες

μεταλλάξεις TTR καθιστούν το τετραμερές ασταθές και πιο επιρρεπές σε αποσύνθεση σε δομικά αλλοιωμένα μονομερή με υψηλή τάση να εισέλθουν σε κατάσταση παθολογικής αναδίπλωσης. Τα μονομερή που εμφανίζουν παθολογική αναδίπλωση είναι επιρρεπή σε αυτοσυσσωμάτωση και αποτελούν τη βάση για τη δομή Β φύλλου που είναι γνωστή ως ινίδια αμυλοειδούς. Είναι ενδιαφέρον ότι τα τετραμερή «άγριου» τύπου έχουν επίσης την ικανότητα να αποσυναρμολογούνται και να γίνονται αμυλοειδογόνα, ενώ υποδηλώνουν ότι η γήρανση έχει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό αμυλοειδούς (Zhang, Goel & Robbie, 2020).

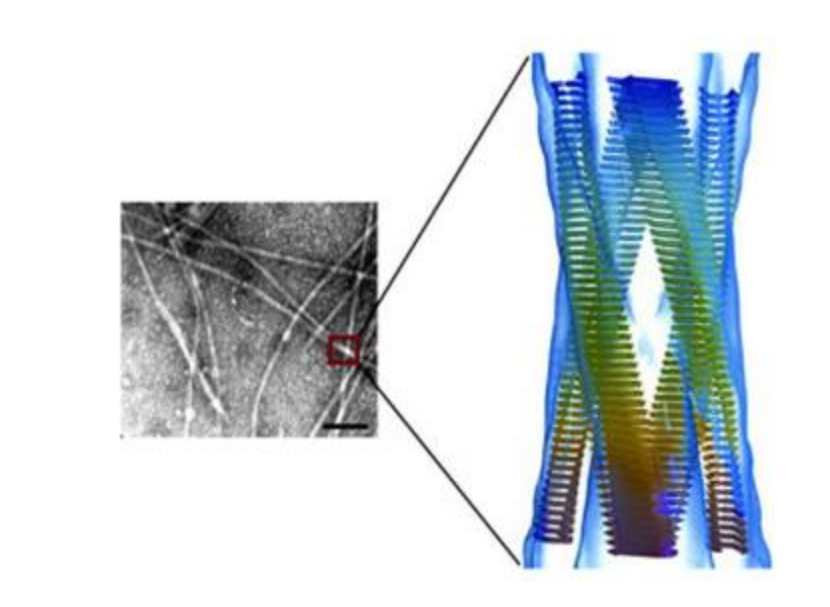
### **1.3. Κληρονομική αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης**

Η κληρονομική αμυλοείδωση από τρανσθυρετίνη (ATTR) είναι μια σπάνια αλλά θανατηφόρα ασθένεια, η οποία, μέχρι πρόσφατα, καλούνταν ως οικογενειακή αμυλοειδής πολυνευροπάθεια (FAP), δεδομένου ότι η αισθητηριακή νευροπάθεια είναι κυρίαρχο χαρακτηριστικό σε πολλές από τις μεταλλάξεις της TTR. Μερικές αρχικές περιγραφές της αμυλοειδικής νόσου παρουσιάστηκαν το 1938 όταν πραγματοποιήθηκαν νεκροτομικές μελέτες σε ασθενείς με πολυνευροπάθεια και αναφέρθηκε η παρουσία αμυλοειδούς στο νευρικό σύστημα. Μια οικογενής μορφή της νόσου περιγράφηκε αρχικά στον πορτογαλικό πληθυσμό. Αργότερα, εντοπίστηκε μια άλλη μεγάλη εστία στην Ιαπωνία και περιεγράφηκε ένας μεγάλος αριθμός οικογενειών με FAP στη Σουηδία το 1976. Η αμυλοείδωση ATTR κληρονομείται με αυτοσωμικό κυρίαρχο τρόπο και μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότερες από 100 μεταλλάξεις στο γονίδιο *TTR*, εκ των οποίων η συντριπτική πλειοψηφία είναι αμυλοειδογόνες (Emdin et al., 2019).

## 2. Αμυλοείδωση

### 2.1. Τα αμυλοειδή και τα αμυλοειδή ινίδια

Το αμυλοειδές αναφέρεται σε ένα πολύ οργανωμένο, αδιάλυτο ινώδες υλικό που εναποτίθεται κυρίως στους εξωκυτταρικούς χώρους οργάνων και ιστών ως αποτέλεσμα αλλαγών στην αναδίπλωση πρωτεϊνών. Το αμυλοειδές μπορεί να σχηματιστεί από διαταραγμένες πρωτεΐνες που δεν έχουν καλά καθορισμένη τριτοταγή δομή ή από μερική αναδίπλωση πρωτεϊνών που συνήθως έχουν καλά καθορισμένη τριτοταγή δομή. Μόλις ξεκινήσει η εναπόθεση αμυλοειδούς, και με συνεχή παραγωγή και αφθονία της πρόδρομης πρωτεΐνης, ο σχηματισμός ινιδίων αμυλοειδούς συνεχίζεται. Οι εναποθέσεις αμυλοειδούς είναι εξαιρετικά σταθερές και αδρανείς και οι μηχανισμοί φυσικής εκκαθάρισης είναι σχετικά αναποτελεσματικοί (Adams & Slama, 2020). Ωστόσο, οι εναποθέσεις αμυλοειδούς βρίσκονται σε κατάσταση δυναμικού κύκλου και μπορούν να υποχωρήσουν εάν σταματήσει ο σχηματισμός νέων ινιδίων. Οι μηχανισμοί φυσικής παλινδρόμησης είναι άγνωστοι. Η ταυτοποίηση του αμυλοειδούς εξαρτάται από την ικανότητά του να δεσμεύει τη χρωστική ουσία στο ερυθρό του Κονγκό και να εμφανίζει πράσινη, κίτρινη ή πορτοκαλί διπλά διαφράγματα όταν οι λεκιασμένες εναποθέσεις φαίνονται υπό πολωμένο φως. Το οπτικό αποτέλεσμα είναι αποτέλεσμα της ευθυγράμμισης των μορίων της χρωστικής κατά μήκος των ινιδίων. Η ερυθρή χρώση του Κονγκό δεν είναι μια αρκετά ευαίσθητη δοκιμή και απαιτεί επαρκή ποσότητα αμυλοειδούς, υψηλής ποιότητας μικροσκόπιο και επαρκή εμπειρία από τον παρατηρητή (Buxbaum, 2019). Τα απομονωμένα ινίδια αμυλοειδούς μπορούν να διακριθούν *in vitro* χρησιμοποιώντας ηλεκτρονική μικροσκόπηση μετάδοσης ή μικροσκοπία ατομικής δύναμης. Αυτές οι τεχνικές απεικόνισης αποκάλυψαν ότι όλα τα αμυλοειδή ινίδια είναι ευθεία, άκαμπτα, μη διακλαδισμένα και αποτελούνται από έναν αριθμό (συνήθως 5 ή 6) πρωτο-ινιδίων, καθένα από τις οποίες έχει διάμετρο περίπου 2-5 nm. Αυτά τα πρωτο-ινίδια μπλέκονται μαζί για να σχηματίσουν ινίδια με πλάτος 7-13 nm. Οι αναλύσεις περίθλασης ακτίνων-X έχουν δείξει ότι σε κάθε πρωτο-ινίδιο, τα πρωτεϊνικά μόρια είναι διατεταγμένα έτσι ώστε η πεπτιδική αλυσίδα σχηματίζει β-κλώνο που τρέχει κάθετα στον ινώδη μακρύ άξονα, ανεξάρτητα από την πρωτεΐνη από την οποία σχηματίζονται. Μια σχηματική εικόνα ενός αμυλοειδούς ινιδίου φαίνεται στο σχήμα 1. Εκτός από το ερυθρό του Κονγκό, τα αμυλοειδή ινίδια δεσμεύουν επίσης τη θειοφλαβίνη T, αλλά αυτή η σύνδεση είναι λιγότερο συγκεκριμένη (Berk, Barros & Coelho, 2018).



*Σχήμα 1: Τα αμυλοειδή ινίδια*

*Τα αμυλοειδή ινίδια από απεικόνιση κάτω από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (αριστερά) και η σχηματική τους δομή (δεξιά). Το ώριμο ινώδες αμυλοειδές σχηματίζεται από μπλεγμένα μικρο-ινίδια. Κάθε μικρο-ινίδιο σχηματίζεται από πεπτιδική αλυσίδα β-κλώνου που τρέχει κάθετα στον μακρύ άξονα ινιδίου.*

Οι αμυλοειδώσεις διαφέρουν ανάλογα με την πρόδρομη πρωτεΐνη που σχηματίζει τα ινίδια του αμυλοειδούς, τον ιστό και τα όργανα στα οποία εναποτίθεται το αμυλοειδές και συνεπώς στα κλινικά χαρακτηριστικά. Διαφορετικές αμυλοειδώσεις (όπως ορίζονται από την πρόδρομη πρωτεΐνη) έχουν διαφορετικά σχήματα. Στη συστηματική αμυλοείδωση, η βλάβη συμβαίνει κυρίως σε ιστό μακρινό από τη θέση της πρόδρομης πρωτεϊνικής σύνθεσης. Η διαδικασία σχηματισμού ινιδίων σε εξωκυτταρικούς χώρους οδηγεί σε μετατόπιση του παρεγχυματικού ιστού από εναποθέσεις αμυλοειδούς, προκαλώντας βλάβη ιστού και δυσλειτουργία οργάνων (Macedo et al., 2020).

### 2.1.1. Σχηματισμός ινιδίου αμυλοειδούς

Ο σχηματισμός αμυλοειδούς *in vivo* συμβαίνει με φυσιολογικές πρωτεΐνες άγριου τύπου και με γενετικά παραλλαγμένες αμυλοειδογόνες πρωτεΐνες. Ωστόσο, οι εναποθέσεις αμυλοειδούς δεν εμφανίζονται σε καμία περίπτωση και η αμυλοείδωση είναι εξαιρετικά σπάνια σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες. Υπάρχει πάντα μια φάση υστέρησης, συχνά πολλών ετών, πριν από την απόθεση κλινικά σημαντικού αμυλοειδούς. Η φάση υστέρησης πιστεύεται ότι είναι ο χρόνος που απαιτείται για το σχηματισμό «πυρήνων» ή «σπόρων» οι οποίοι στη συνέχεια δρουν ως πρότυπα για την ανάπτυξη αμυλοειδούς-ινιδίου. Μόλις σχηματιστούν οι σπόροι, μια διαδικασία που λαμβάνει χώρα στοχαστικά *in vivo*, ο σχηματισμός αμυλοειδούς είναι αυτοκαταλυτικός και προοδευτικός, δεδομένης της συνεχούς παροχής ή αφθονίας της πρόδρομης πρωτεΐνης (Ando et al., 2013). Σε ζωικά μοντέλα αμυλοείδωσης, η φάση υστέρησης μπορεί να μειωθεί σημαντικά με χορήγηση εκχυλίσματος ιστού που περιέχει αμυλοειδές ή με απομονωμένα αμυλοειδή ινίδια. *In vitro*, οι καθαρές πρωτεΐνες μπορούν να μετατραπούν σε ινίδια τύπου αμυλοειδούς χωρίς επιπλέον βιολογικά μόρια, αν και οι συνθήκες υπό τις οποίες συμβαίνει αυτή η μετατροπή συνήθως δεν είναι φυσιολογικές και απαιτούν παραδείγματος χάριν χαμηλό pH, υψηλή θερμοκρασία ή οργανικούς διαλύτες, οι οποίοι προάγουν τη μερική αναδίπλωση των πρωτεϊνών. Η δυνατότητα σχηματισμού αμυλοειδών ινιδίων *in vitro* οδήγησε σε εκτεταμένα πειράματα ινιδιογένεσης πρωτεΐνης μελετώντας τους υποκείμενους μηχανισμούς τέτοιων διεργασιών. Από τα αποτελέσματα τέτοιων πειραμάτων, γενικά πιστεύεται ότι η μετατροπή ενός διαλυτού μονομερούς πεπτιδίου σε αδιάλυτα ώριμα ινίδια αμυλοειδούς περιλαμβάνει ένα μερικώς ξεδιπλωμένο ενδιάμεσο που είναι θερμοδυναμικά ασταθές και προχωρά γρήγορα στην σταθερή μορφή αμυλοειδούς (Adams et al., 2019). Οι μελέτες για την κινητική αυτής της μετάβασης στη συνέχεια, πρότειναν το προαναφερθέν εξαρτώμενο από την πυρήνα μοντέλο, όταν σχηματίζεται ένας ετερογενής «πυρήνας» που αποτελείται από ολιγομερή παθολογική πρωτεΐνη. Τέτοιοι σπόροι στη συνέχεια δρουν ως μήτρα στο στάδιο πολυμερισμού, όταν κανονικά διπλωμένα μονομερή πολυπεπτίδια δεσμεύονται στον πυρήνα σχηματίζοντας μεγάλη ποικιλία δομών από μικρά διαλυτά ολιγομερή έως μεγάλα αμυλοειδή ινίδια. Η σπορά με φυσικά ή συνθετικά προσχηματισμένα ινίδια επιταχύνει την ινωδογένεση *in vitro*. Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού ινιδίων, έχουν αναγνωριστεί πολλές πολυμερείς ή πολυμερείς μη ινώδεις δομές. Σε αυτές περιλαμβάνονται πολύ πρώιμα είδη που ονομάζονται ολιγομερή (διμερή, τριμερή,

τετραμερή) και αργότερα δομές που μοιάζουν με χάντρες μήκους έως 200 nm, οι οποίες ονομάζονται πρωτόφιλα. Αυτά πιστεύεται ότι είναι διαλυτά ενδιάμεσα στον σχηματισμό ώριμων, αδιάλυτων αμυλοειδών ινών (Yang, 2019).

### 2.1.2. Αμυλοειδή μόρια

Κάθε τύπος αμυλοειδούς χαρακτηρίζεται από την πρόδρομη αμυλοειδή πρωτεΐνη που σχηματίζει τον πυρήνα. Ανεξάρτητα από την αμυλοειδή πρωτεΐνη, υπάρχουν κοινά επιπρόσθετα μη ινδικά συστατικά που βρίσκονται σε όλες τις εναποθέσεις αμυλοειδούς *in vivo* αλλά η λειτουργία τους δεν είναι πλήρως κατανοητή. Αυτά τα δευτερεύοντα συστατικά περιλαμβάνουν γλυκοζαμινογλυκάνες, αμυλοειδές P του ορού (SAP) και απολιποπρωτεΐνη E. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs) είναι γραμμικοί πολυσακχαρίτες πανταχού παρόντες σε όλα τα όργανα και τους ιστούς των θηλαστικών, κυρίως σε εξωκυτταρικούς χώρους και στην κυτταρική επιφάνεια. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες - θειική ηπαράνη, θειική χονδροϊτίνη και θειική δερματάνη έχουν συν-καθαριστεί και συν-εντοπιστεί εξαιρετικά δομικά με διάφορα αμυλοειδή ινίδια (Ruberg et al., 2019). Μπορούν να συμβάλουν στην αμινοειδή ινιδιογένεση και στη σταθεροποίηση της ινώδους δομής. Το αμυλοειδές P του ορού (SAP<sup>2</sup>), μια φυσιολογική πρωτεΐνη του πλάσματος που κυκλοφορεί, είναι μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών πεντραξίνης, η οποία εκκρίνεται και καταβολίζεται από τα ηπατοκύτταρα. Η SAP δεσμεύεται αντιστρεπτά σε όλες τις εναποθέσεις αμυλοειδών *in vivo* και αντιπροσωπεύει έως και το 15% της μάζας τους. Έχει αποδειχθεί ότι η SAP σταθεροποιεί τα αμυλοειδή ινίδια και τα προστατεύει από την αποδόμηση από πρωτεάσες και φαγοκυτταρικά κύτταρα *in vitro* και συμβάλλει στην αμυλοειδογένεση *in vivo*. Η εμφάνιση της SAP σε όλους τους τύπους αμυλοειδούς και η σύνδεση της SAP με αμυλοειδές έχει βρει τη χρήση του στη διάγνωση και την ποσοτική παρακολούθηση των εναποθέσεων αμυλοειδούς με ενδοφλέβιες ενέσεις ραδιενεργά επισημασμένης SAP, η οποία παρουσιάζεται παρακάτω (Gillmore et al., 2016).

---

<sup>2</sup> serum amyloid P

### 2.1.3. Παθογένεια του αμυλοειδούς

Η φυσική παρουσία αποθέσεων αμυλοειδούς σε εξωκυτταρικούς χώρους οδηγεί σε μετατόπιση του παρεγχυματικού ιστού προκαλώντας διαταραχή της δομής και της λειτουργίας του ιστού, και δυσλειτουργία οργάνων. Η αύξηση του φορτίου αμυλοειδούς αυξάνει τη σοβαρότητα της νόσου και η σταθεροποίηση ή υποχώρηση των εναποθέσεων αμυλοειδούς σχετίζεται με κλινική σταθερότητα ή βελτίωση των ασθενών με αμυλοείδωση. Πρόσφατα, συζητήθηκε η κυτταροτοξικότητα των αμυλοειδών ινιδίων και των προ-ινωδών αμυλοειδών αποθέσεων. Έχει προταθεί από *in vitro* μελέτες ότι τα προϊνιδιακά ενδιάμεσα έχουν κυτταροτοξική επίδραση στα κύτταρα του προσβεβλημένου ιστού που προκαλούν οξειδωτικό στρες και κυτταρική απόπτωση (Conceição et al., 2019). Σε ένα μοντέλο ποντικού, η θέση των άμορφων συσσωματωμάτων TTR συνέπεσε με μια αύξηση του οξειδωτικού στρες στον ιστό που μπορεί να προκληθεί από κυτταροτοξικές επιδράσεις των συσσωματωμάτων TTR στα περιβάλλοντα κύτταρα. Έτσι, αν και το αμυλοειδές είναι αδρανές και η αμυλοείδωση ορίζεται από την παρουσία ώριμων εναποθέσεων αμυλοειδούς, το κυτταροτοξικό προ-ινιδικό υλικό μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να συμβάλει στην κλινική νόσο (Benson et al., 2018).

### 2.1.4. Επιδημιολογία της αμυλοείδωσης

Αν και περισσότερες από 30 διαφορετικές αμυλοειδογενείς πρωτεΐνες προκαλούν αμυλοείδωση, 5 τύποι αμυλοείδωσης αντιστοιχούν σε ~ 95% όλων των αμυλοειδών - αμυλοείδωση από ελαφρά αλυσίδα ανοσοσφαιρίνης (AL), αμυλοείδωση από αμυλοειδές A του ορού (AA), αμυλοείδωση από τρανσυρετίνη (ATTR), αμυλοείδωση από β2-μικροσφαιρίνη (Aβ2m) ) και αμυλοείδωση από A-αλυσίδα ινωδογόνου (AFib). Τα πιστοποιητικά θανάτου από το Ηνωμένο Βασίλειο δείχνουν ότι η αμυλοείδωση είναι αιτία θανάτου σε 0,58 ανά 1000 άτομα. Η συχνότητα εμφάνισης αμυλοείδωσης στο Ηνωμένο Βασίλειο είναι ~ 0,4 ανά 100.000 πληθυσμούς με την αιχμή της συχνότητας στην ηλικία των 60-79 ετών (Gertz et al., 2019). Τα πρότυπα παραπομπών έχουν αλλάξει σημαντικά τα τελευταία 20 χρόνια στο Εθνικό Κέντρο Αμυλοείδωσης (NAC<sup>3</sup>) στο Ηνωμένο Βασίλειο - η συχνότητα της αμυλοείδωσης AL παρέμεινε σταθερή (67% όλων των περιπτώσεων - ως ποσοστό των συνολικών παραπομπών ετησίως),

---

<sup>3</sup> National Amyloidosis Centre



σημαντική παρατηρήθηκε μείωση στην αμυλοείδωση AA (από 32% σε 6,8% όλων των περιπτώσεων) που πιθανώς αντικατοπτρίζει τη βελτίωση της θεραπείας των φλεγμονωδών αρθροπαθειών, ενώ η καρδιομυοπάθεια που σχετίζεται με την αμυλοείδωση ATTR άγριου τύπου έχει αυξηθεί σημαντικά (από 0,2% σε περισσότερο από 6,4%) (Sekijima, 2015).

## **2.2. Τύποι και κλινικά χαρακτηριστικά των συστηματικών αμυλοειδώσεων**

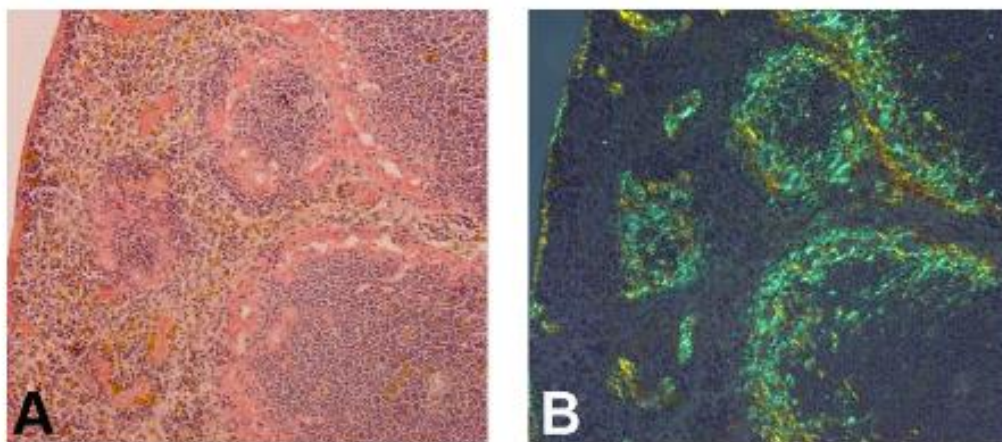
Οι αμυλοειδώσεις είναι διαταραχές που επηρεάζουν πολλαπλά όργανα και τα κλινικά χαρακτηριστικά της συστηματικής αμυλοείδωσης είναι σπάνια ειδικά για έναν τύπο αμυλοείδωσης. Επιπλέον, ορισμένοι τύποι αμυλοείδωσης επηρεάζουν πάντοτε ένα συγκεκριμένο όργανο (π.χ. η άγριου τύπου ATTR αμυλοείδωση επηρεάζει πάντα την καρδιά) ενώ η επιπλοκή ενός συγκεκριμένου οργάνου κυμαίνεται από την μικρή έως τη σοβαρή σε άλλους τύπους αμυλοείδωσης. Σε αυτήν την ενότητα, εισάγεται η συμμετοχή μεγάλων οργάνων σε διαφορετικούς τύπους αμυλοειδών. Η καρδιά είναι το πιο κοινά όργανα που εμπλέκεται στην αμυλοείδωση και η καρδιακή αμυλοείδωση είναι η πιο εμφανής αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας στην αμυλοείδωση (Coelho et al., 2013). Οι πιο κοινές μορφές καρδιακής αμυλοείδωσης είναι οι τύποι AL και ATTR. Στην αμυλοείδωση AL, το προσβολή της καρδιάς εμφανίζεται σε >65% των ασθενών. Η καρδιακή επινέμιση είναι το κυρίαρχο χαρακτηριστικό της αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου και ορισμένων κληρονομικών μορφών αμυλοείδωσης ATTR, αν και σε ορισμένες παραλλαγές της TTR η καρδιακή αμυλοείδωσης μπορεί να είναι ασυνήθιστο (π.χ. V30M) ή δεν αναφέρεται. Το αμυλοειδές στην καρδιά είναι επίσης κοινό χαρακτηριστικό της αμυλοείδωσης της απολιποπρωτεΐνης A-I (ApoAI). Η εναπόθεση αμυλοειδούς στην καρδιά οδηγεί σε προοδευτική πάχυνση των τοιχωμάτων των κοιλιών, αυξάνει την ακαμψία του μυοκαρδίου και τις πιέσεις πλήρωσης της Αρ κοιλίας, η οποία οδηγεί σε διάταση του κόλπου και κολπική μαρμαρυγή και μπορεί να προκαλέσει συστηματικά εμβολικά συμβάντα (Finsterer et al., 2019). Οι πιο συνηθισμένοι τύποι θανάτου στην καρδιακή αμυλοείδωση είναι η προοδευτική καρδιακή ανεπάρκεια και η αρρυθμία. Οι νεφροί εμπλέκονται συχνότερα σε αμυλοειδώσεις AA, AL, AFib και ApoAI και το αμυλοειδές των νεφρών είναι συχνά πηγή νοσηρότητας. Η κλινική εκδήλωση του αμυλοειδούς των νεφρών είναι η πρωτεϊνουρία ή η νεφρική δυσλειτουργία, με διάφορους βαθμούς νεφρικής ανεπάρκειας. Το αμυλοειδές μπορεί να βρεθεί οπουδήποτε στο νεφρό, αλλά επικρατεί η εναπόθεση στα

σπειράματα. Η νεφρική δυσλειτουργία τείνει να εξελίσσεται ταχύτερα όταν το αμυλοειδές εναποτίθεται στα σπειράματα του νεφρού παρά στο διάμεσο των νεφρικών σωληναρίων. Τα αυτόνομα και περιφερικά νεύρα είναι άλλες σημαντικές θέσεις που εμπλέκονται στην αμυλοείδωση AL, ορισμένες κληρονομικές μορφές αμυλοείδωσης ATTR, αμυλοείδωση AποAI και κληρονομική αμυλοείδωση β2m. Η περιφερική νευροπάθεια είναι συνήθως αξονική και ξεκινά με απώλεια αίσθησης κρύου και θερμότητας. Η αισθητηριακή νευροπάθεια ακολουθείται από κινητική νευροπάθεια με απώλεια της εκτεταμένης λειτουργίας των ποδιών προκαλώντας ασταθές περπάτημα. Η αυτόνομη νευροπάθεια εκδηλώνεται με ακράτεια ούρων, ανωμαλίες ιδρώτα, διάρροια που εναλλάσσεται με δυσκοιλιότητα, στυτική δυσλειτουργία, ορθοστατική υπόταση (Mankad & Shah, 2017). Το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα είναι μια κοινή επιπλοκή της αμυλοείδωσης ATTR και της επίκτητης αμυλοείδωσης από β2μ. Προκύπτει από τη συμπίεση του μέσου νεύρου και την παγίδευση του στην καρπιαία σήραγγα από αποθέσεις αμυλοειδούς. Οι εναποθέσεις αμυλοειδούς στο ήπαρ είναι πολύ συχνές στην αμυλοείδωση AL, σε μεταγενέστερα στάδια της αμυλοείδωσης AA, στην αμυλοείδωση AποAI και στην αμυλοείδωση AFib. Οι κλινικές εκδηλώσεις του αμυλοειδούς του ήπατος είναι ήπιες. Η συσσώρευση αμυλοειδούς μπορεί να αυξήσει την ακαμψία του ηπατικού παρεγχύματος με αποτέλεσμα υψηλότερη ηπατική δυσκαμψία. Το αμυλοειδές βρίσκεται επίσης συνήθως στον σπλήνα στη συστηματική αμυλοείδωση, αλλά συνήθως ασυμπτωματικό. Έχει αναφερθεί ατραυματική ρήξη του αμυλοειδούς της , αλλά είναι εξαιρετικά σπάνια (Gertz, 2017). Η επινέμηση του γαστρεντερικού είναι συχνή στη συστηματική αμυλοείδωση και περίπου το 30-60% των ασθενών αναπτύσσουν γαστρεντερικά συμπτώματα. Το αμυλοειδές στη γλώσσα είναι ένα χαρακτηριστικό της αμυλοείδωσης AL και αναφέρεται σε 10-23% των ασθενών με αμυλοείδωση AL. Η κληρονομική αμυλοείδωση ATTR συχνά εκδηλώνεται με γαστρεντερικά συμπτώματα, αλλά αυτά μπορεί να εμφανιστούν λόγω της αυτόνομης πολυνευροπάθειας. Οι εναποθέσεις αμυλοειδούς στον λιπώδη ιστό είναι σχεδόν καθολικές αλλά ασυμπτωματικές (Waddington-Cruz et al., 2018). Αν και η αλληλουχία αμινοξέων των πρωτεϊνών και η παρατεταμένη παροχή της σχετικής πρωτεΐνης υπαγορεύουν τη δυνατότητα μιας πρωτεΐνης να σχηματίσει αμυλοειδές, οι μηχανισμοί που επηρεάζουν την προτιμησιακή θέση της εναπόθεσης αμυλοειδούς δεν είναι ακόμη κατανοητοί. Οι γενετικοί ή περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην ευαισθησία στον σχηματισμό αμυλοειδούς. Αυτό είναι εμφανές για παράδειγμα σε περιπτώσεις όπου η ίδια παραλλαγή V30M TTR, υπεύθυνη για την οικογενειακή

πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς, έχει μεταγενέστερη έναρξη και χαμηλότερη διείδυση στη μορφή της νόσου στη Σουηδία από ό, τι στους πληθυσμούς της Πορτογαλίας και της Ιαπωνίας, όπου η έναρξη είναι πολύ νωρίτερα και η διείδυση είναι πολύ υψηλότερη (Mickle et al., 2019).

### 2.3. Διάγνωση αμυλοείδωσης

Η διάγνωση της αμυλοείδωσης είναι πολύπλοκη λόγω της εμπλοκής διαφορετικών συστημάτων οργάνων και ο εντοπισμός των εναποθέσεων αμυλοειδούς ποικίλλει ανάλογα με την αμυλοειδογόνο πρωτεΐνη. Συχνά διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο της νόσου επειδή η αμυλοείδωση εξετάζεται μόνο όταν έχουν αποκλειστεί οι διάφορες πιο συχνές αιτίες των συμπτωμάτων. Η διάγνωση της αμυλοείδωσης περιλαμβάνει προσεκτική κλινική αξιολόγηση, επιβεβαίωση της εναπόθεσης αμυλοειδούς, τυποποίηση του τύπου αμυλοειδούς, αξιολόγηση της υποκείμενης αμυλοειδογόνου διαταραχής και αξιολόγηση της έκτασης της συμμετοχής αμυλοειδών οργάνων (Mathew & Wang, 2019). Το οικογενειακό ιστορικό είναι επίσης σημαντικό για τη διάγνωση της κληρονομικής αμυλοείδωσης. Η διάγνωση του αμυλοειδούς βασίζεται στην ιστολογική ανάλυση των βιοψιών του προσβεβλημένου οργάνου που βάφονται με τη βαφή του ερυθρού του Κονγκό, μετά την οποία το αμυλοειδές εμφανίζεται κόκκινο υπό το φωτεινό πεδίο και γίνεται πορτοκαλί, κίτρινο ή πράσινο με πολωμένο φως (Σχήμα 2). Η βιοψία υποδόριου λίπους χρησιμοποιείται συχνά για ιστολογική διάγνωση αμυλοειδούς (Mathew & Wang, 2019).



*Σχήμα 2: Ταυτοποίηση του αμυλοειδούς από το ερυθρό του Κονγκό. Το αμυλοειδές σε ένα δείγμα ιστού δεσμεύει το ερυθρό του Κονγκό. Σε ένα ελαφρύ μικροσκόπιο, το αμυλοειδές εμφανίζεται κόκκινο κάτω από το φωτεινό πεδίο (A) και γίνεται πράσινο / πορτοκαλί όταν εφαρμόζεται ένα φίλτρο πόλωσης (B). Ένα αμυλοειδές AA σε σπλήνα ποντικού.*

Η ανοσοϊστοχημική χρώση ιστού που περιέχει αμυλοειδές είναι η ευρύτερα διαθέσιμη μέθοδος για την ταυτοποίηση της ειδικής πρωτεΐνης αμυλοειδούς ινιδίου. Η φασματομετρία μάζας αμυλοειδικού υλικού χρησιμοποιείται επίσης για την πληκτρολόγηση ινιδίων. Αυτή η ανάλυση περιλαμβάνει μικροδιατομή λέιζερ και σύλληψη θετικού υλικού ερυθρού του Κονγκό από τομή σταθερού ιστού με μικροσκόπιο δέσμησης λέιζερ. Οι αλγόριθμοι υπολογιστών αντιστοιχούν στη συνέχεια το υλικό σε μια βάση δεδομένων αναφοράς πρωτεϊνών. Αυτό αποτελεί μια τεχνική πρόκληση και απαιτεί επικύρωση σε κάθε εργαστήριο πριν από τη συνήθη κλινική χρήση (Benson et al., 2018). Όταν υπάρχει υποψία κληρονομικής συστημικής αμυλοείδωσης, πραγματοποιείται αλληλουχία γονιδίων. Στις αμυλοειδώσεις AL και AA, η αναγνώριση της υποκείμενης διαταραχής είναι ένα σημαντικό βήμα στη διάγνωση. Απαιτείται μέτρηση της ελαφριάς αλυσίδας ανοσοσφαιρίνης στον ορό για την ανίχνευση της μονοκλωνικής πρωτεΐνης στην οποία βασίζεται η αμυλοείδωση AL και είναι ενημερωτική στο 95% των περιπτώσεων. Στην AA αμυλοείδωση, απαιτείται ταυτοποίηση της υποκείμενης φλεγμονώδους διαταραχής που είναι υπεύθυνη για αυξημένα επίπεδα της αμυλοειδογόνου πρωτεΐνης ορού αμυλοειδούς A (SAA). Ωστόσο, μερικές φορές η αιτία των αυξημένων επιπέδων SAA δεν είναι γνωστή (Kristen et al., 2019).

Η σάρωση SAP, μια μη επεμβατική μέθοδος χρησιμοποιώντας ραδιοσημασμένο SAP ως ειδικό ιχνηλάτη για αμυλοειδές, χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση του φορτίου αμυλοειδούς *in vivo*. Η SAP, μια φυσιολογική πρωτεΐνη πλάσματος, συνδέεται έντονα με όλα τα αμυλοειδή ανθρώπινων συστημικών αμυλοειδών και συγκεντρώνεται στις θέσεις εναπόθεσης αμυλοειδούς. Το γεγονός ότι υπάρχει σταθερή ισορροπία μεταξύ του κυκλοφορούντος και του δεσμευμένου αμυλοειδούς SAP και ότι η ποσότητα του δεσμευμένου αμυλοειδούς SAP σχετίζεται με την ποσότητα του αμυλοειδούς που υπάρχει στους ιστούς, οδήγησε στην ανάπτυξη μιας ειδικής και ποσοτικής μεθόδου ανίχνευσης *in vivo* για συστημική εναπόθεση αμυλοειδούς (Adams et al., 2018). Αυτή η κλινική μέθοδος χρησιμοποιεί ενδοφλέβια χορήγηση ραδιοσημασμένου 125I-humanSAP (125I-hSAP), το οποίο κατανέμεται μεταξύ των αποθέσεων πλάσματος και αμυλοειδούς. Το 125I-hSAP που διατηρείται στο σώμα δεσμευμένο στο αμυλοειδές, επιτρέπει στη συνέχεια τον έλεγχο του φορτίου αμυλοειδούς σε ασθενείς με αμυλοείδωση (Σχήμα 3). Έχει αποδειχθεί ότι η σάρωση SAP είναι μια ασφαλής και μη επεμβατική τεχνική που παρέχει

πληροφορίες σχετικά με την παρουσία, την κατανομή, την έκταση και παλινδρόμηση αμυλοειδών αποθέσεων όλων των τύπων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν επανειλημμένα. Κύριος περιορισμός αυτής της τεχνικής είναι ότι δεν μπορεί να απεικονίσει αμυλοειδές στην κινούμενη καρδιά. Η σάρωση SAP είναι διαθέσιμη μόνο στο Εθνικό Κέντρο Αμυλοείδωσης στο Λονδίνο και στο Πανεπιστήμιο του Γκρόνινγκεν στην Ολλανδία (Mickle et al., 2019).



*Σχήμα 3: Σάρωση SAP από έναν ασθενή με AL αμυλοείδωση. Το 2005, παρατηρήθηκαν βαριές αποθέσεις αμυλοειδούς στη σάρωση στο ήπαρ και στον σπλήνα. Το 2009, μετά από καλή ανταπόκριση στη θεραπεία, παρατηρήθηκε σημαντική υποχώρηση των εναποθέσεων. Το 2011, η σάρωση έδειξε υποτροπή με εναποθέσεις αμυλοειδούς στα νεφρά.*

Η καρδιακή αμυλοείδωση εκτιμάται συνήθως με ηχοκαρδιογραφία αποκαλύπτοντας πυκνότητα κοιλιακών τοιχωμάτων και διαστολική δυσλειτουργία. Η απεικόνιση του μαγνητικού συντονισμού της καρδιάς είναι πιο ακριβής και αναπαραγώγιμη από το ηχοκαρδιογράφημα. Η καρδιακή μαγνητική τομογραφία μπορεί να δώσει ακριβείς ανατομικές πληροφορίες, συμπεριλαμβανομένου του πάχους του τοιχώματος και επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό του κλάσματος όγκου του μυοκαρδίου, το οποίο επεκτείνεται σε μεγάλο βαθμό στην αμυλοείδωση (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019). Πρόσφατα, έχει παρατηρηθεί ότι η σπινθηρογραφία με  $^{99m}\text{Tc}$  σημασμένα παράγωγα φωσφορικών που χρησιμοποιούνται συνήθως ως πυρηνικός ιχνηθέτης οστού, ανιχνεύει αμυλοειδές σε ορισμένες περιπτώσεις. Είναι ενδιαφέρον ότι ο ιχνηλάτης των οστών είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος για το

αμυλοειδές ATTR και κάποια αμυλοειδή AL. Αυτή η μέθοδος μελετήθηκε προκειμένου να επικυρωθεί η χρήση της για αξιολόγηση καρδιακού αμυλοειδούς (Vita et al., 2019).

## **2.4. Θεραπεία της αμυλοείδωσης**

Η υποστηρικτική φροντίδα για τη διατήρηση της λειτουργίας των οργάνων είναι ζωτικής σημασίας για όλους τους τύπους αμυλοείδωσης. Η μεταμόσχευση ήπατος για την απομάκρυνση της ηπατικής πηγής της γενετικά παραλλαγμένης αμυλοειδογόνου πρωτεΐνης έχει πραγματοποιηθεί σε επιλεκτικούς ασθενείς με αμυλοειδώσεις ATTR, AApoAI και AFib. Μέχρι σήμερα, η πιο αποτελεσματική θεραπεία της συστηματικής αμυλοείδωσης εστιάζεται στη μείωση της προσφοράς της πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς ινώδους έτσι ώστε να σταματά η εναπόθεση αμυλοειδούς και μπορεί να συμβεί παλινδρόμηση των υπαρχόντων αμυλοειδών αποθέσεων (Zhang, Goel & Robbie, 2020). Ωστόσο, αυτό δεν είναι ακόμη δυνατό για ορισμένους τύπους αμυλοείδωσης. Εισάγεται εν συντομία η θεραπεία των πιο κοινών τύπων αμυλοειδών. Η θεραπεία της αμυλοείδωσης AL περιλαμβάνει χημειοθεραπεία που στοχεύει την υποκείμενη πλασματοκυτταρική δυσκράσια των κλωνικών κυττάρων πλάσματος, η οποία οδηγεί σε ταχεία μείωση της παραγωγής αμυλοειδογόνων ελαφρών αλυσίδων από τα Β-κύτταρα, περιορίζοντας την προοδευτική βλάβη στα αμυλοειδοτικά όργανα. Ωστόσο, η τοξικότητα της θεραπείας σε αμυλοειδικά όργανα με μειωμένη λειτουργία απαιτεί συχνή αξιολόγηση και πιθανή ταχεία αλλαγή στη θεραπεία. Αν και η επιβίωση σε ασθενείς με αμυλοείδωση AL έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, σχεδόν το 25% όλων των ασθενών εξακολουθούν να αποβιώνουν από επιπλοκές που σχετίζονται με τη νόσο εντός μερικών μηνών από τη διάγνωση (Emdin et al., 2019). Στην AA αμυλοείδωση, το κρίσιμο βήμα στη διαχείριση της νόσου, είναι η μείωση της παραγωγής SAA με θεραπεία της υποκείμενης φλεγμονώδους διαταραχής που προκαλεί τις αυξημένες συγκεντρώσεις κυκλοφορούντος SAA. Άλλες πολλά υποσχόμενες στρατηγικές για τη θεραπεία της συστηματικής αμυλοείδωσης που αναπτύσσονται βασίζονται στην πρόληψη του σχηματισμού αμυλοειδούς. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με σταθεροποίηση της πρόδρομης πρωτεΐνης ινιδίου προκειμένου να ανασταλεί η λανθασμένη αναδίπλωσή της, η οποία παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την αμυλοείδωση της τρανσθυρετίνης. Αυτή η στρατηγική συζητείται στο κεφάλαιο αμυλοείδωσης τρανσθυρετίνης μαζί με θεραπείες αναστολής του RNA που στοχεύουν στη σύνθεση της TTR. Οι τετρακυκλίνες, και συγκεκριμένα η δοξυκυκλίνη έχει

δειχθεί ότι αναστέλλουν το σχηματισμό ινιδίων και διαταράσσουν τα αμυλοειδή ινίδια *in vitro* και πειράματα σε ζωικά μοντέλα έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα *in vivo* (Benson, Dasgupta & Monia, 2019). Με βάση αυτές τις μελέτες, κλινικές δοκιμές που έχουν σχεδιαστεί για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας, της ανοχής και της ασφάλειας της δοξυκυκλίνης βρίσκονται υπό διερεύνηση που δείχνουν ευεργετικά αποτελέσματα στη σταθεροποίηση της εξέλιξης της νόσου σε αμυλοείδωση ATTR, αμυλοείδωση AL και ανακούφιση από τον πόνο στην αμυλοείδωση Aβ2m. Μια άλλη προσέγγιση στη θεραπεία της αμυλοείδωσης είναι η παρέμβαση στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμυλοειδογόνου πρωτεΐνης και επιπρόσθετων μορίων που συμβάλλουν στην συσσώρευση ινιδίων. Η αναστολή της αλληλεπίδρασης μεταξύ των γλυκοζαμινογλυκάνων και των αμυλοειδών ινιδίων είναι μια πιθανή προσέγγιση στη θεραπεία της αμυλοείδωσης και το Eprodinate που δρα με αυτόν τον τρόπο έχει αναφερθεί ότι επιβραδύνει την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας στην AA αμυλοείδωση (Karoor et al., 2019). Πρόσφατα, έχει αναφερθεί μια νέα ανοσοθεραπευτική προσέγγιση της άμεσης στόχευσης εναπόθεσης αμυλοειδούς για απομάκρυνση. Αυτή η στρατηγική χρησιμοποιεί αντίσωμα που στοχεύει τη SAP, ένα κοινό μη ινιδικό συστατικό των αμυλοειδών αποθέσεων που συνδέεται με όλα τα αμυλοειδή ινίδια. Η χρήση της SAP ως στόχου σημαίνει ότι η ίδια θεραπεία είναι, καταρχήν, κατάλληλη για όλους τους τύπους αμυλοειδούς. Προκειμένου να αποφευχθεί ο σχηματισμός ανοσοσυμπλόκου μεταξύ του κυκλοφορούντος SAP και του θεραπευτικού αντισώματος, η κυκλοφορούσα πρωτεΐνη SAP εξαντλείται χρησιμοποιώντας το φάρμακο CPHPC. Το CPHPC διασυνδέει τα SAP για να σχηματίσουν δεκαμερή που καθαρίζονται γρήγορα από το SAP ήπατος που παραμένει στο αμυλοειδές και στη συνέχεια παρέχει έναν ειδικό στόχο για το αντίσωμα (Gales, 2019). Σε μοντέλα ποντικού AA αμυλοείδωσης, αυτή η θεραπευτική προσέγγιση είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση συμπληρώματος στις εναποθέσεις προσελκύνοντας και εμπλέκοντας μακροφάγα που στη συνέχεια συντήχθηκαν σε πολυπύρρηνα γιγαντιαία κύτταρα ικανά να καταλύουν και να καθαρίσουν γρήγορα μάζες αμυλοείδωσης. Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν σε ανθρώπινη φάση I κλινική δοκιμή θεραπείας με αντισώματα αντι-SAP, η οποία ανέφερε εξαιρετικά ελπιδοφόρα αποτελέσματα με ταχεία μείωση των αποθέσεων αμυλοειδούς ήπατος. Αναμένονται δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα στην καρδιακή και νεφρική νόσο (Adams & Slama, 2020).

### **3. Αμυλοείδωση απο τρανσθυρετίνη**

#### **3.1. Τρανσθυρετίνη**

Η τρανσθυρετίνη (TTR) είναι μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στο πλάσμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF<sup>4</sup>). Ανακαλύφθηκε τη δεκαετία του 1940, ονομάστηκε για πρώτη φορά προ-αλβουμίνη λόγω της μετανάστευσής του πριν από την αλβουμίνη σε ηλεκτροφορητικά πειράματα στα βιολογικά υγρά. Το 1958, η προ-αλβουμίνη αποδείχθηκε ότι δεσμεύει την θυρεοειδική ορμόνη θυροξίνη και δέκα χρόνια αργότερα, αποδείχθηκε ότι η προ-αλβουμίνη δεσμεύει επίσης την πρωτεΐνη που δεσμεύει τη ρετινόλη (RBP) στο πλάσμα. Το 1981, σύμφωνα με την αποσαφήνιση της ονοματολογίας, η προ-αλβουμίνη μετονομάστηκε σε τρανσθυρετίνη, ένα όνομα που δείχνει τη λειτουργία της - μεταφορά θυροξίνης και πρωτεΐνης που δεσμεύουν ρετινόλη. Η TTR είναι ένα ομοτετραμερές 55 kDa που αποτελείται από 4 πανομοιότυπες υπομονάδες 127 αμινοξέων η καθεμία (Buxbaum, 2019). Η TTR εκκρίνεται κυρίως από τα ηπατοκύτταρα και από το χοριοειδές πλέγμα του εγκεφάλου και η δευτερεύουσα σύνθεση έχει επίσης εντοπιστεί στο επιθήλιο του οφθαλμού και της ακτινωτής χρωστικής του οφθαλμού, του σπλαγχνικού σάκου κρόκου, του πλακούντα και άλλων οργάνων. Η συγκέντρωση TTR στο ανθρώπινο πλάσμα είναι 170-350 mg / περίπου 10 φορές λιγότερη στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Το μεγαλύτερο μέρος της TTR αποικοδομείται από τα ηπατικά παρεγχυματικά κύτταρα και ορισμένες τρανσθυρετίνες υποβαθμίζονται επίσης στους μυς, το δέρμα και άλλα όργανα (Berk, Barroso & Coelho, 2018).

#### **3.2. Οι λειτουργίες της τρανσθυρετίνης**

Μία από τις λειτουργίες της τρανσθυρετίνης είναι η μεταφορά θυρεοειδικής ορμόνης θυροξίνης (T4). Οι ορμόνες του θυρεοειδούς είναι απαραίτητες για τη σωστή ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος, το μεταβολισμό, την ανάπτυξη των οστών και για άλλες ρυθμιστικές λειτουργίες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και στην ενήλικη ζωή. Οι θυρεοειδικές ορμόνες υπάρχουν σε δύο κύριες μορφές - θυροξίνη (T4) και 3,5,3'-τριωδοθυρονίνη (T3). Η T4 και μια μικρή ποσότητα T3 παράγονται από μια ενζυματικά διασπασμένη θυροσφαιρίνη που συντίθεται από τα θυλάκια του θυρεοειδούς αδένου (Macedo et al., 2020). Οι θυρεοειδικές ορμόνες

---

<sup>4</sup> Cerebrospinal fluid



κατανέμονται από τον θυρεοειδή αδένα μέσω κυκλοφορίας. Μετά την επίτευξη του ιστού-στόχου, η T4 ζητά μετατροπή από 5'-δεϊωδινάσες σε πιο βιολογικά δραστική μορφή T3. Η T3 συνδέεται με τον υποδοχέα πυρηνικής θυρεοειδικής ορμόνης, ο οποίος στη συνέχεια συνδέεται με στοιχεία που ανταποκρίνονται στις θυρεοειδικές ορμόνες που βρίσκονται στις περιοχές υποκινητή των γονιδίων που ανταποκρίνονται στον θυρεοειδή και επηρεάζει τη μεταγραφή γονιδίων. Περισσότερο από το 99% της T4 κυκλοφορεί στα βιολογικά υγρά που συνδέονται με τις πρωτεΐνες που μεταφέρουν ορμόνες του θυρεοειδούς: σφαιρίνη δεσμεύουσα τη θυροξίνη (TBG<sup>5</sup>), TTR και αλβουμίνη. Στους ανθρώπους, περίπου το 70% του πλάσματος T4 μεταφέρεται με TBG και το 15% με TTR (Ando et al., 2013). Στα τρωκτικά, το TTR είναι ο κύριος φορέας του πλάσματος T4. Στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ξ TTR είναι ο κύριος φορέας T4 τόσο για ανθρώπους όσο και για τρωκτικά. Ωστόσο, μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια αποκάλυψαν ότι οι πρωτεΐνες-φορείς θυρεοειδικής ορμόνης δεν είναι απαραίτητες για την πρόσληψη ή διανομή ιστών T4. Τα ποντίκια που δεν έχουν TTR, έχουν μειωμένες ποσότητες ολικού πλάσματος T4 και T3, αλλά τα φυσιολογικά επίπεδα ελεύθερων ορμονών πλάσματος σε σύγκριση με τα ποντίκια άγριου τύπου και η ανάπτυξή τους δεν επηρεάζεται, τα ποντίκια είναι υγιή και βιώσιμα και η πρόσβαση των θυρεοειδικών ορμονών και κατανέμεται στον εγκέφαλο του ποντικού (Adams et al., 2019). Πρόσφατα, η πιθανότητα της T4 να ενεργοποιεί γονίδια που ανταποκρίνονται στις θυρεοειδικές ορμόνες σε γυρίνους υποδηλώνει ότι η T4 μπορεί επίσης να υιοθετήσει δραστηριότητα σηματοδότησης θυρεοειδικής ορμόνης και να δράσει απευθείας στον ιστό. Η TTR, μαζί με άλλες πρωτεΐνες φορείς πλάσματος είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση μιας μεγάλης δεξαμενής ορμονών στην κυκλοφορία, αλλά η λειτουργία της στις προσλήψεις ορμονών στον ιστό δεν είναι πλήρως κατανοητή. Η TTR λειτουργεί επίσης ως μεταφορέας του συμπλέγματος RBP<sup>6</sup>-ρετινόλης. Η ρετινόλη, ή η βιταμίνη A, είναι ένας πρόδρομος του χρωμοφόρου οπτικής χρωστικής σε φωτουποδοχείς του αμφιβληστροειδούς που προκαλεί μεταγωγή, στον οποίο το φως μεταφράζεται σε νευρικό σήμα και διασφαλίζει έτσι τη βέλτιστη όραση (Yang, 2019). Η ρετινόλη είναι επίσης ένας πρόδρομος του ρετινοϊκού οξέος που συνδέεται με παράγοντες μεταγραφής σε διάφορους ιστούς και ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων. Η μεταφορά ρετινόλης από το ήπαρ στον περιφερειακό ιστό λαμβάνει χώρα στο πλάσμα, όπου η ρετινόλη συνδέεται με RBP και στη συνέχεια το σύμπλοκο ρετινόλης-RBP

---

<sup>5</sup> Thyroxine-binding globulin

<sup>6</sup> Retinol-binding proteins

συνδέεται με TTR στην κυκλοφορία. Όταν δεν δεσμεύονται με TTR, η RBP και η ρετινόλη διηθούνται γρήγορα από τα νεφρά και χάνονται στα ούρα. Στον ιστό στόχο, το σύμπλεγμα ρετινόλης-RBP συνδέεται με έναν υποδοχέα μεμβράνης RBP που ονομάζεται STRA6, ο οποίος επίσης μεσολαβεί στην κυτταρική πρόσληψη βιταμίνης Α. Αν και σχεδόν της 50% της κυκλοφορούμενης TTR χρησιμοποιείται για την παροχή ρετινόλης συνδεδεμένης με RBP σε στοχευμένους ιστούς, τα TTR Knock-out ποντίκια δεν εμφανίζουν συμπτώματα ανεπάρκειας βιταμίνης Α, παρά το γεγονός ότι έχουν πολύ χαμηλά επίπεδα κυκλοφορίας βιταμίνης Α και RBP (<6% και 3% των επιπέδων άγριου τύπου ποντικών, αντίστοιχα) (Ruberg et al., 2019). Τα TTR νοκ-άουτ ποντίκια μπορούν επομένως να χρησιμοποιούν αποθηκευμένη ρετινόλη από το ήπαρ παρά την ελαττωματική μεταφορά ρετινόλης. Εκτός από τη λειτουργία του πλάσματος, η TTR έχει πρωτεολυτική δράση. Αποδείχθηκε ότι 1-2% της TTR κυκλοφορεί σε συνδυασμό με λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL<sup>7</sup>) μέσω δέσμευσης στην απολιποπρωτεΐνη Α-I (ApoAI). Σε πειράματα *in vitro*, η TTR διέκοψε την ApoAI που επηρέασε τη μεταφορά χοληστερόλης και αύξησε την αμυλοειδογένεση της ApoAI, χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης (Gillmore et al., 2016). Η TTR έχει επίσης αναφερθεί ότι αποκόπτει το πεπτίδιο Αβ, ένα αμυλοειδογόνο πεπτίδιο που σχετίζεται με την παθολογία της νόσου του Alzheimer, μπορεί να καθαρίσει το Αβ, να αποικοδομήσει τις συσσωματωμένες μορφές του Αβ και έτσι θα μπορούσε να έχει προστατευτικό ρόλο στην νόσο του Alzheimer. Προτάθηκε επίσης ότι η πρωτεολυτική δράση της TTR παίζει ρόλο στην αναγέννηση των νεύρων. Η TTR είναι μια αρνητική πρωτεΐνη οξειάς φάσης - η μεταγραφή της TTR ρυθμίζεται προς τα κάτω στο ήπαρ μετά από φλεγμονή ή τραύμα που οδηγεί σε μειωμένη συγκέντρωση TTR στο αίμα. Ωστόσο, η σύνθεση TTR στο ήπαρ και το χοριοειδές πλέγμα ρυθμίζεται ανεξάρτητα (Conceição et al., 2019).

---

<sup>7</sup> High-density lipoprotein

### **3.3. Τύποι αμυλοείδωσης από τρανσθυρετίνη**

Οι αμυλοειδώσεις από τρανσθυρετίνη περιλαμβάνουν δύο κύριους τύπους: άγριου τύπου ATTR αμυλοείδωση με τον άγριου τύπου TTR ως πρόδρομο αμυλοειδούς ινιδίου και κληρονομική συστηματική ATTR αμυλοείδωση που προκαλείται από μια μετάλλαξη στο γονίδιο TTR. Η αμυλοείδωση ATTR άγριου τύπου χαρακτηρίζεται από καρδιακό επεισόδιο. Η κληρονομική συστηματική αμυλοείδωση ATTR εκδηλώνεται με οικογενή πολυνευροπάθεια, στην οποία τα αμυλοειδή ινίδια εναποτίθενται κυρίως στο περιφερικό νευρικό σύστημα ή οικογενή μυοκαρδιοπάθεια αμυλοειδούς, στην οποία η κύρια θέση των εναποθέσεων αμυλοειδούς είναι η καρδιά (Benson et al., 2018). Ενώ οι περισσότερες μεταλλάξεις αμυλοείδωσης TTR σχετίζονται με οικογενειακή πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς και το αμυλοειδές στην καρδιά μπορεί ή δεν μπορεί να εμφανιστεί, η καρδιακή αμυλοείδωση είναι το κυρίαρχο κλινικό χαρακτηριστικό της αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου και σε ασθενείς με μετάλλαξη V122I στο γονίδιο TTR στο οποίο το αμυλοειδές σπάνια πολυνευροπάθεια (Gertz et al., 2019).

#### **3.3.1. Αμυλοείδωση ATTR (μη κληρονομούμενη άγριου τύπου, μη μεταλλαγμένη TTR)**

Η μη κληρονομική αμυλοείδωση ATTR (άγριου τύπου) αναφέρεται ως γεροντική συστηματική αμυλοείδωση λόγω της καθυστερημένης ηλικίας έναρξης, συνήθως μετά την έβδομη δεκαετία της ζωής. Η καρδιά είναι το κύριο όργανο που προσβάλλεται, με το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα να είναι πολύ συχνά η άλλη κλινική εκδήλωση της νόσου. Στην αμυλοείδωση ATTR άγριου τύπου, οι εναποθέσεις αμυλοειδούς προέρχονται από άγριου τύπου TTR και δεν έχει εντοπιστεί γενετική προδιάθεση. Σε αναλύσεις κατά τη διάρκεια νεκροψίας, το καρδιακό αμυλοειδές TTR άγριου τύπου βρέθηκε στο 25% των ατόμων άνω των 85 ετών, με μέτριες ή σοβαρές καταθέσεις σε > 5%. Η επίπτωση της αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου είναι πολύ μεγαλύτερη στους άνδρες από τις γυναίκες και η διάμεση επιβίωση από τη στιγμή της διάγνωσης είναι μικρότερη από 4 χρόνια (Sekijima, 2015).

*Κλινικές εκδηλώσεις και διάγνωση αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου*

Οι κλινικές εκδηλώσεις αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου είναι κολπική μαρμαρυγή και δύσπνοια με ηχοκαρδιογράφημα και μαγνητική τομογραφία που δείχνουν αυξημένο πάχος και δυσκαμψία κοιλιακού τοιχώματος. Το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα μπορεί να είναι ένα πρώιμο σημάδι αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου, πριν από την καρδιακή εκδήλωση κατά 8 έως 10 χρόνια, καθώς οι εναποθέσεις αμυλοειδούς TTR άγριου τύπου βρίσκονται σε σχεδόν 30% των ηλικιωμένων που υποβάλλονται σε αποσυμπίεση καρπιαίου σωλήνα (Coelho et al., 2013). Η διάγνωση της αμυλοείδωσης ATTR άγριου τύπου επιβεβαιώθηκε με ιστολογική ανάλυση βιοψίας καρδιακού ιστού και αλληλουχίας γονιδίων TTR που δεν δείχνει μεταλλάξεις. Εάν δεν είναι δυνατή η καρδιακή βιοψία, μπορεί να είναι χρήσιμη η αναρρόφηση κοιλιακού λίπους ή η ορθική βιοψία. Ωστόσο, το αμυλοειδές δεν μπορεί να βρεθεί σε αυτούς τους ιστούς. Πρόσφατα αξιολογείται μια νέα μέθοδος χρήσης σπινθηρογραφίας <sup>99m</sup>Tc-DPD για ανίχνευση καρδιακού αμυλοειδούς, δείχνοντας αξιοσημείωτη ευαισθησία του εντοπισμού αμυλοειδούς στην καρδιά, ειδικά σε σχέση με το αμυλοειδές ATTR (Finsterer et al., 2019).

### **3.3.2. Κληρονομική συστηματική αμυλοείδωση ATTR**

Η κληρονομική αμυλοείδωση ATTR είναι μια κυρίαρχη κληρονομική συστηματική ασθένεια αμυλοειδούς που προκύπτει από μια μετάλλαξη στο γονίδιο TTR. Περισσότερες από 100 παραλλαγές του γονιδίου TTR έχουν αναγνωριστεί μέχρι σήμερα, με περισσότερες από 80 από αυτές τις παραλλαγές να είναι αμυλοειδογόνες. Οι παραλλαγές TTR παρουσιάζουν κλινική ετερογένεια, αλλά η πλειονότητα των αμυλοειδογενών παραλλαγών σχετίζεται με οικογενή πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς, μια θανατηφόρα νόσο που χαρακτηρίζεται από εξωκυτταρικές εναποθέσεις αμυλοειδούς ATTR κυρίως στο περιφερικό νευρικό σύστημα, συμπεριλαμβανομένων των αυτόνομων νέρων (Mankad & Shah, 2017). Ορισμένες μεταλλάξεις παρουσιάζονται με οικογενειακή πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς (π.χ. TTRV30M), με συνδυασμό οικογενειακής πολυνευροπάθειας αμυλοειδούς και οικογενειακής καρδιομυοπάθειας αμυλοειδούς (π.χ. TTRR34T), μόνο με μυοκαρδιοπάθεια (π.χ. TTRV122I) και κάποια μετάλλαξη μπορεί επίσης να υπάρχει με εναπόθεση υαλώδους TTR (π.χ. TTRV30) λεπτομυμενικές εναποθέσεις αμυλοειδούς (π.χ. TTR184S). Η οικογενής αμυλοειδική πολυνευροπάθεια (FAP<sup>8</sup>) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1952 στην Πορτογαλία και στη συνέχεια αναφέρθηκε στην Ιαπωνία και τη Σουηδία. Αποδείχθηκε τότε ότι οι Πορτογάλοι, οι

---

<sup>8</sup> Familial amyloid polyneuropathy

Ιάπωνες και οι Σουηδοί ασθενείς φέρουν την ίδια παραλλαγή TTRV30M. Ορισμένες παραλλαγές TTR έχουν εκπροσωπηθεί καλά από εκτεταμένα συγγενείς (TTRV30M, TTRT60A, TTRV122I), ενώ οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις έχουν βρεθεί σε μία οικογένεια ή σε ένα άτομο (Gertz, 2017).

#### *Επιδημιολογία της κληρονομικής αμυλοειδωσης ATTR*

Ο επιπολασμός της οικογενειακής αμυλοειδούς πολυνευροπάθειας εκτιμάται σε 100.000 άτομα στην Ευρώπη. Η πιο κοινή παραλλαγή που παρουσιάζει πολυνευροπάθεια είναι το TTRV30M, το οποίο έχει τον υψηλότερο επιπολασμό στη Σουηδία, την Πορτογαλία και την Ιαπωνία φτάνοντας το 1 στα 1000 σε ενδημικές περιοχές. Ωστόσο, η διείσδυση ποικίλλει μεταξύ των πληθυσμών - για παράδειγμα στην ATTR V30M, η διείσδυση είναι χαμηλή στη Σουηδία με το 11% των φορέων που έχουν κλινική νόσο σε ηλικία 50 ετών αλλά υψηλό στην Πορτογαλία με το 80% των φορέων να είναι συμπτωματικοί έως την ηλικία των 50 ετών (Waddington-Cruz et al., 2018). Η πρόοδος της νόσου μπορεί να είναι γρήγορη μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, αλλά η μέση διάρκεια της νόσου από την έναρξη έως το θάνατο είναι περίπου 10 χρόνια και μπορεί να ποικίλει ανάλογα με την ενδημική περιοχή, τα συμπτώματα, τον γονότυπο και άλλους παράγοντες που δεν είναι ακόμη γνωστοί. Η καρδιακή εμπλοκή είναι συχνή στην FAP και έχει αναφερθεί σε περισσότερες από τις μισές παραλλαγές. Οι δύο πιο συνηθισμένες γενετικές παραλλαγές στην οικογενή μυοκαρδιοπάθεια αμυλοειδούς είναι η TTRV122I και η TTRT60A. Η ATTR V122I είναι ο πιο συνηθισμένος τύπος με 3-4% των ατόμων καταγωγής Αφρο-Καραϊβικής, που μεταφέρουν το αλληλόμορφο V122I. Εκτιμάται ότι περίπου 1,5 εκατομμύρια αφροαμερικανοί φέρουν τη μετάλλαξη V122I και διατρέχουν κίνδυνο ανάπτυξης καρδιακής αμυλοειδωσης ATTR, αν και η διείσδυση είναι αβέβαιη. Η ATTR T60A είναι η πιο κοινή παραλλαγή στο Ηνωμένο Βασίλειο (Mickle et al., 2019).

#### *Κλινικές εκδηλώσεις οικογενούς αμυλοειδική πολυνευροπάθειας*

Η οικογενειακή πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς χαρακτηρίζεται από σοβαρή περιφερική και αυτόνομη νευροπάθεια. Τα πρώτα συμπτώματα μπορεί να εμφανιστούν σε ασθενείς στις αρχές της δεκαετίας των 30 και να σημειωθεί ουσιαστική πρόοδος τις επόμενες δύο δεκαετίες, αλλά η καθυστερημένη έναρξη της νόσου είναι επίσης συχνή. Η αμυλοειδής νευροπάθεια είναι συνήθως συμμετρική και αύξουσα, εξαρτώμενη από την αξονική νευροπάθεια. Συνήθως ξεκινά με

απώλεια αισθήσεων θερμότητας και κρύου στα κάτω άκρα που εξελίσσεται σε άνω άκρα (Mathew & Wang, 2019). Μέσα σε λίγα χρόνια, η αισθητηριακή νευροπάθεια ακολουθείται από κινητική νευροπάθεια με απώλεια της λειτουργίας της επέκτασης των ποδιών που προκαλεί ασταθές περπάτημα και προχωρά τα επόμενα 10-20 χρόνια. Η αυτόνομη νευροπάθεια εκδηλώνεται με ακράτεια ούρων, ανωμαλίες εφίδρωσης, διάρροια εναλλασσόμενη με δυσκοιλιότητα, στυτική δυσλειτουργία και ορθοστατική υπόταση. Το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα είναι επίσης συχνό. Στις βιοψίες του περιφερικού νεύρου, οι εναποθέσεις αμυλοειδούς βρίσκονται χαρακτηριστικά στο ενδονεύριο και γύρω από τα νευρικά αιμοφόρα αγγεία. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, η πυκνότητα και η βιωσιμότητα των νευρικών ινών μειώνεται και τα ενδοουρητικά αιμοφόρα αγγεία καταστρέφονται συχνά από το αμυλοειδές. Δεν εντοπίστηκαν ενδοκυτταρικές εναποθέσεις αμυλοειδούς ATTR στους άξονες ή στα νευρωνικά κυτταρικά σώματα. Οι εναποθέσεις αμυλοειδούς ATTR βρίσκονται επίσης στα τοιχώματα του στομάχου και του ορθού, αλλά όχι ιδιαίτερα στο εντερικό νευρικό σύστημα (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019).

#### *Διάγνωση κληρονομικής πολυνευροπάθειας αμυλοειδούς*

Η οικογενής αμυλοειδής πολυνευροπάθεια διαγιγνώσκεται ιστολογικά σε βιοψία ιστού. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν βιοψίες νεύρων, δέρματος, λίπους, σιελογόνων αδένων ή ορθού, αλλά ένα αρνητικό αποτέλεσμα για την παρουσία αμυλοειδούς δεν αποκλείει την αμυλοειδωση ATTR. Η ανοσοϊστοχημεία και η φασματομετρία μάζας του αμυλοειδούς που συλλαμβάνεται με λέιζερ χρησιμοποιούνται για να επιβεβαιώσουν την πρωτεΐνη αμυλοειδούς και η αλληλουχία του γονιδίου TTR χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της μετάλλαξης TTR. Το σπινθηρογράφημα με ραδιοσημασμένο SAP αποκαλύπτει το αμυλοειδές φορτίο των προσβεβλημένων ιστών (Benson et al., 2018).

### 3.3.3. Θεραπεία της αμυλοείδωσης ATTR

Η θεραπεία πρώτης γραμμής κληρονομικής συστηματικής αμυλοείδωσης περιλαμβάνει μεταμόσχευση ανεπαρκούς οργάνου ή μεταμόσχευσης ήπατος ως την κύρια θέση της σύνθεσης TTR για την αντικατάσταση της μεταλλαγμένης αμυλοειδογόνου πρωτεΐνης με φυσιολογική μη μεταλλαγμένη TTR. Η συγκέντρωση της παραλλαγής TTR έχει μειωθεί κατά 98% σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση ήπατος και αυτή η διαδικασία έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει σημαντικά την επιβίωση των ασθενών. Ωστόσο, η παρουσία αποθέσεων καρδιακού αμυλοειδούς είναι ένας περιοριστικός παράγοντας στη μεταμόσχευση ήπατος καθώς το TTR άγριου τύπου μπορεί ακόμα να εναποτεθεί ως αμυλοειδές στο προϋπάρχον εκμαγείο αμυλοειδούς στην καρδιά (Adams et al., 2018). Οι καρδιακές μεταμοσχεύσεις σε ασθενείς με TTRV122I με καρδιομυοπάθεια φαίνεται να έχουν πολλά υποσχόμενα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα. Νέες θεραπείες βρίσκονται υπό ανάπτυξη για την αμυλοείδωση ATTR. Μία στρατηγική για τη θεραπεία της αμυλοείδωσης ATTR εστιάζεται στην ανάπτυξη μορίων που συνδέονται με το τετραμερές TTR πλάσματος για τη σταθεροποίηση της φυσικής τετραμερούς δομής του μορίου TTR. Με τη σταθεροποίηση του τετραμερούς, το TTR δεν αποσυντίθεται σε μονομερή και αναστέλλεται η λανθασμένη αναδίπλωση και η απόθεση των μονομερών TTR. Το 2006, το Diflunisal, ένα μη στεροειδές φλεγμονώδες φέρεται να σταθεροποιεί τα τετραμερή TTR έναντι της διάσπασης σε μονομερή (Mickle et al., 2019). Το Tafamidis, ένα νέο σταθεροποιητικό TTR, έχει αναπτυχθεί και δοκιμαστεί σε ιατρικές δοκιμές με αποτέλεσμα βραδύτερη πρόοδο της νόσου και έχει λάβει έγκριση μάρκετινγκ από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Ιατρικής. Ωστόσο, αναφέρθηκε σε μια δοκιμή μετά την έγκριση από το Γαλλικό Δίκτυο για οικογενή αμυλοειδή πολυνευροπάθεια ότι η νευρολογική δυσλειτουργία επιδεινώθηκε στο 55% των ασθενών με προχωρημένο ATTRV30 σε αυτούς τους ασθενείς. Μια άλλη στρατηγική αντιμετώπισης της αμυλοείδωσης ATTR χρησιμοποιεί προσεγγίσεις αναστολής του TTR RNA - θεραπεία μικρής παρεμβολής RNA (siRNA) και θεραπεία αντιπληροφοριακού ολιγονουκλεοτιδίου (ASO<sup>9</sup>) που βρίσκονται τώρα σε κλινική ανάπτυξη (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019). Προκαταρκτικά δεδομένα από κλινικές δοκιμές με χρήση TTR-στόχευσης siRNA έδειξαν μεγαλύτερη από 80% μείωση των επιπέδων TTR χωρίς μείζονες τοξικές επιδράσεις. Τα αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια είναι συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια που συνδέονται άμεσα

---

<sup>9</sup> anti-sense oligonucleotide

με το TTR mRNA, οδηγώντας στην αποικοδόμησή του από RNase H. Μελέτες που χρησιμοποιούν αυτήν την παρεμβατική προσέγγιση έδειξαν ταχείες μειώσεις του TTR πλάσματος σε διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν ανθρώπινο TTR και σε μοντέλο πρωτεύοντος εκτός του ανθρώπου. Συνεχίζονται οι κλινικές δοκιμές σε υγιείς εθελοντές και σε ασθενείς με αμυλοείδωση ATTR (Vita et al., 2019).

### **3.4. Τα ινίδια αμυλοειδούς τρανσθυρετίνης**

Το 1983, μελέτες σχετικά με την πρωτογενή δομή της καθαρτισμένης πρωτεΐνης αμυλοειδούς ινιδίου των οικογενειών της Πορτογαλίας με αμυλοειδή πολυνευροπάθεια, αποκάλυψαν ότι υπάρχει μια μεθειονίνη για υποκατάσταση βαλίνης στη θέση 30 της ώριμης πρωτεΐνης σε σύγκριση με το φυσιολογικό TTR πλάσματος και η παραλλαγή TTR εντοπίστηκε επίσης στο πλάσμα ασθενών με οικογενειακή πολυνευροπάθεια αμυλοειδούς μαζί με φυσιολογικό TTR άγριου τύπου (Zhang, Goel & Robbie, 2020). Η υποκατάσταση V30M επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια σε Σουηδούς και Ιάπωνες ασθενείς με οικογενή αμυλοειδή πολυνευροπάθεια. Στα επόμενα χρόνια, περιεγράφηκαν άλλες μεταλλάξεις στην αλληλουχία TTR και η ανταλλαγή ενός μόνο υπολείμματος αμινοξέος στην πρωτεΐνη TTR πιστεύεται ότι καθιστά την πρωτεΐνη TTR επιρρεπή σε αμυλοειδογένεση. Το 1988, τα ινίδια αμυλοειδούς που απομονώθηκαν από την καρδιά των ασθενών με αμυλοείδωση ATTR άγριου τύπου ταυτοποιήθηκαν ως TTR με φυσιολογικές αλληλουχίες αμινοξέων που δείχνουν ότι το TTR άγριου τύπου είναι επίσης αμυλοειδογόνο. Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωρισθεί περισσότερες από 100 μεταλλάξεις στο γονίδιο TTR, οι περισσότερες από τις οποίες σχετίζονται με σχηματισμό αμυλοειδούς. Αφού ανακαλύφθηκε το TTR και η εμπλοκή του στην αμυλοείδωση, η αμυλοειδογένεση της πρωτεΐνης μελετήθηκε εντατικά *in vitro*. Το εγγενές TTR είναι ένα τετραμερές (Emdin et al., 2019). Η συσσώρευση αμυλοειδούς του TTR απαιτεί διαχωρισμό του τετραμερούς σε μονομερή και μερική αναδίπλωση και αναδίπλωση τέτοιων μονομερών σε αμυλοειδογόνα ενδιάμεσα με αυτοσύνδεση σε διαλυτά oligομερή και στη συνέχεια σε αδιάλυτα αμυλοειδή ινίδια. Τα φυσικά τετραμερή των παραλλαγών TTR που σχετίζονται με αμυλοείδωση είναι λιγότερο σταθερά *in vitro* από το TTR άγριου τύπου και έχει γίνει αποδεκτό ότι ο διαχωρισμός τετραμερών και η μερική μετουσίωση των απελευθερωμένων μονομερών είναι ένα κρίσιμο βήμα για το σχηματισμό ινιδίων αμυλοειδούς. Τα φυσικά τετραμερή των παραλλαγών TTR που σχετίζονται



με αμυλοείδωση είναι λιγότερο σταθερά *in vitro* από το TTR άγριου τύπου και έχει γίνει αποδεκτό ότι ο διαχωρισμός τετραμερών και η μερική μετουσίωση των απελευθερωμένων μονομερών είναι ένα κρίσιμο βήμα για το σχηματισμό ινιδίων αμυλοειδούς (Benson, Dasgupta & Morita, 2019). Από την άλλη πλευρά, η μετάλλαξη TTRT119, μια κοινή μη παθογόνος παραλλαγή στον πληθυσμό της Πορτογαλίας, είναι πιο σταθερή και όταν συνδυάζεται με μια αμυλοειδογόνο παραλλαγή TTR, αναστέλλει το σχηματισμό ινιδίων στους φορείς τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Ωστόσο, δεν είναι γνωστό τι προκαλεί διαχωρισμό τετραμερών TTR και λανθασμένη αναδίπλωση του μονομερούς *in vivo*. Η TTR είναι συνήθως μια πολύ σταθερή πρωτεΐνη που δεν μετουσιώνεται θερμικά σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 80° C και η διάσπασή της σε μονομερή *in vitro* απαιτεί χαμηλό pH ή υψηλή συγκέντρωση μετουσιωτικών. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί *in vitro* ότι μονομερείς υπομονάδες στα τετραμερή TTR ανταλλάσσονται υπό φυσικές συνθήκες που δείχνουν ότι το TTR αποσυνδέεται απελευθερώνοντας ένα μονομερές και ξανασυνδέεται σε ένα φυσικό τετραμερές (Karoor et al., 2019). Τα αμυλοειδή ινίδια που απομονώθηκαν από ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση ATTR ετερόζυγη για μετάλλαξη TTR, έδειξαν ότι οι εναποθέσεις αποτελούνται από μεταλλαγμένο καθώς και TTR άγριου τύπου και η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη αποτελεί περίπου τα δύο τρίτα των εναποθέσεων αμυλοειδούς ATTR. Επιπλέον, ένα κύριο συστατικό των *ex vivo* ATTR αμυλοειδών ινιδίων είναι ένα 49-127 Ο-τερματικό θραύσμα του TTR μονομερούς, ανεξάρτητα από την παρουσία ή τη θέση οποιασδήποτε αμυλοειδογόνου μετάλλαξης. Αυτά τα ευρήματα και τα πειράματα παρακολούθησης *in vitro* έδειξαν ότι μια πρωτεολυτική διάσπαση μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο στην αποσταθεροποίηση των τετραμερών και στην απελευθέρωση των περικομμένων μονομερών που είναι εξαιρετικά αμυλοειδογόνα (Gales, 2019). Η παραλλαγή S52P TTR είναι η λιγότερο σταθερή παραλλαγή και προκαλεί τον πιο επιθετικό γνωστό φαινότυπο της αμυλοείδωσης ATTR. *In vitro*, το πλήρες μήκος hTTRS52P δεν σχηματίζει αμυλοειδή ινίδια υπό ανάδευση σε φυσιολογικές συνθήκες, όπως το ανθρώπινο TTR άγριου τύπου και άλλες παραλλαγές TTR. Ωστόσο, αμυλοειδή ινίδια σχηματίστηκαν γρήγορα όταν προστέθηκε θρυψίνη στο διάλυμα πρωτεΐνης hTTRS52P. Το κύριο συστατικό του ινώδους υλικού ταυτοποιήθηκε ως 49-127 θραύσμα της hTTRS52P, το ίδιο θραύσμα όπως φαίνεται στα απομονωμένα *ex vivo* ATTR αμυλοειδή ινίδια. Επίσης, η παραλλαγή S52P αποδείχθηκε πολύ πιο ευαίσθητη σε πρωτεολυτική διάσπαση σε σύγκριση με TTR άγριου τύπου και άλλες παραλλαγές TTR. Περαιτέρω πειράματα έδειξαν ότι η TTR που αποτελείται από

άγριου τύπου TTR και μονομερή TTRS52P μπορεί να κυκλοφορεί ως τετραμερές ακόμη και αν μία υπομονάδα έχει αποκοπεί (Adams & Slama, 2020). Το θραύσμα 49-127 απελευθερώνεται από το τετραμερές υπό ορισμένες συνθήκες που οδηγούν στην ταχεία ενσωμάτωσή του σε αμυλοειδή ινίδια. Η επίδραση της εναπόθεσης αμυλοειδούς στη βιοχημική λειτουργία του προσβεβλημένου ιστού δεν έχει επιβεβαιωθεί ποτέ σαφώς και μελετήθηκε η τοξικότητα των μη ινωδών TTR συσσωματωμάτων. Σε ασυμπτωματικούς φορείς της παραλλαγής TTR V30M, η TTR είχε ήδη συσσωματωθεί σε μη ινιδική μορφή, αρνητική για χρώση στο ερυθρό του Κονγκό. Το μη ινωτικό TTR υπήρχε επίσης σε μεταγενέστερα στάδια της αμυλοείδωσης ATTR μαζί με τα ινίδια αμυλοειδούς ATTR στον προσβεβλημένο ιστό. Αναφέρθηκε ότι οι ινώδεις εναποθέσεις ATTR δεν προκαλούν κυτταρική βλάβη αλλά τα μη ινώδη συσσωματώματα μπορεί να είναι τοξικά στα κύτταρα που προκαλούν οξειδωτικό και φλεγμονώδες στρες και κυτταρική απόπτωση (Buxbaum, 2019).

## 4. Η μελέτη των φαρμάκων patisiran και inotersen

### 4.1. Εισαγωγή

Μέχρι πρόσφατα, δεν υπήρχε διαθέσιμη θεραπεία που να αντιστρέφει τη ζημιά που προκαλείται από εναποθέσεις αμυλοειδούς, ούτε υπήρχε διαθέσιμη εγκεκριμένη από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA<sup>10</sup>) θεραπεία στις ΗΠΑ. Στις 10 Αυγούστου 2018, ο FDA ενέκρινε το patisiran για τη θεραπεία της πολυνευροπάθειας σε ενήλικες ασθενείς με hATTR. Επιπλέον, το inotersen έχει εγκριθεί από τον FDA για πολυνευροπάθεια που σχετίζεται με το hATTR, τον Οκτώβριο του 2018. Δύο άλλες παλαιότερες θεραπείες περιλαμβάνουν μεταμόσχευση ήπατος και το diflunisal (Berk, Barroso & Coelho, 2018). Οι περιορισμοί της μεταμόσχευσης ήπατος ως θεραπεία για hATTR περιλαμβάνουν διαθεσιμότητα αλλομοσχεύματος, νευρολογική και καρδιακή νόσο μετά από μεταμόσχευση (π.χ., ταυτόχρονη καρδιομυοπάθεια hATTR κατά τη στιγμή της μεταμόσχευσης) και σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα που σχετίζονται με την ίδια τη μεταμόσχευση. Το diflunisal, ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (NSAID) που σταθεροποιεί τα τετραμερή τρανσθυρετίνης, διατίθεται και χρησιμοποιείται στην hATTR. Ωστόσο, η μακροχρόνια χρήση του diflunisal περιορίζεται από κοινούς κινδύνους για όλα τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ), όπως γαστρεντερική αιμορραγία, επιδείνωση της νεφρικής ανεπάρκειας και καρδιαγγειακά συμβάντα (π.χ. εγκεφαλικό επεισόδιο). Επιπλέον, το diflunisal δεν αντιστρέφει νευρολογική ή καρδιακή δυσλειτουργία (Macedo et al., 2020).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω υπάρχουν δύο νέα φάρμακα για τη θεραπεία της hATTR: το patisiran και το inotersen. Καθώς οι πρώτοι καταστολείς γονιδίων TTR αναστέλλουν την παραγωγή της πρωτεΐνης που προκαλεί το hATTR, το κλινικό ενδιαφέρον για τη χρήση του patisiran και του inotersen είναι υψηλό (Ando et al., 2013). Ωστόσο, μπορεί να υπάρχουν αβεβαιότητες που σχετίζονται με τη μετάφραση των νευρολογικών αποτελεσμάτων σε μακροπρόθεσμο κλινικό όφελος, τη διάρκεια αυτού του οφέλους, τις πιθανές βλάβες της θεραπείας και το κόστος που σχετίζεται με τη χρήση αυτών των φαρμάκων. Η αβεβαιότητα παραμένει επίσης σχετικά με το πότε θα ξεκινήσει η θεραπεία σε ένα θετικό άτομο, απαιτώντας

---

<sup>10</sup> Food and Drug Administration

έτσι θεραπεία για το υπόλοιπο της διάρκειας ζωής του ασθενούς με συνοδευτικά κόστη και επαναβαθμονόμηση του λόγου κινδύνου προς όφελος. Εδώ θα εξεταστούν τα κλινικά στοιχεία και ο πιθανός οικονομικός αντίκτυπος του inotersen και του patisiran για το hATTR (Adams et al., 2019).

## 4.2. Πληροφορίες από συζητήσεις με ασθενείς και ομάδες ασθενών

Παρακάτω, παρέχεται μια περίληψη των κύριων θεμάτων από συζητήσεις με ασθενείς και μεμονωμένες υποβολές ασθενών και φροντιστών. Σημειώνεται ότι αυτά τα θέματα ενδέχεται να μην αντιπροσωπεύουν τις εμπειρίες όλων των ασθενών με hATTR, ιδιαίτερα εκείνων που βρίσκονται στα αρχικά στάδια και λιγότερο επιβαρύνονται από την πάθηση. Ασθενείς, ομάδες υπεράσπισης ασθενών και φροντιστές αναφέρουν για την hATTR (Yang, 2019):

- ο είναι μια ασθένεια με σοβαρή αναπηρία που επηρεάζει βαθιά όλες τις πτυχές της ποιότητας ζωής,
- ο έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της ανεξαρτησίας και την αίσθηση της «ομαλότητας», εμποδίζει τους ασθενείς να εργάζονται, να έχουν χόμπι και, τελικά, να εγκαταλείπουν τα σπίτια τους και να εκτελούν δραστηριότητες καθημερινής ζωής (π.χ. ντύσιμο, σίτιση ή μπάνιο),
- ο επηρεάζει πολλά μέλη και γενιές οικογενειών,
- ο οδηγεί σε σωματική αναπηρία που καθιστά δύσκολο για τους ασθενείς να ταξιδέψουν σε κέντρα αριστείας για να λάβουν θεραπεία (Ruberg et al., 2019).

Οι ασθενείς περιγράφουν συμπτώματα όπως δυσκολία στο περπάτημα, εναλλασσόμενη δυσκοιλιότητα και ανεξέλεγκτη διάρροια, τα οποία περιγράφουν ως ενοχλητικά. Οι ασθενείς περιγράφουν μια καταστροφική επίδραση της ασθένειας στην οικογενειακή ζωή, με μέλη πολλών γενεών της ίδιας οικογένειας να επηρεάζονται. Μερικά άτομα φροντίζουν τα μεγαλύτερα μέλη της οικογένειας που επηρεάζονται, ενώ ανησυχούν επίσης για παιδιά που μπορεί αργότερα να αναπτύξουν hATTR. Οι φροντιστές περιγράφουν τη συναισθηματική επιβάρυνση του «γνωρίζοντας τι θα έρθει» και συχνά αγωνίζονται να εξισορροπήσουν τις ευθύνες της εργασίας, της παροχής των μελών της οικογένειας στο σπίτι και της μεταφοράς ασθενών σε ιατρικά ραντεβού (Gillmore et al., 2016). Οι τρέχουσες θεραπείες έχουν

περιορισμένη αποτελεσματικότητα και οι ασθενείς συχνά δυσκολεύονται να ταξιδέψουν σε έναν μικρό αριθμό Κέντρων Αμυλοειδών σε ακαδημαϊκά ιατρικά κέντρα στις ΗΠΑ για να λάβουν θεραπεία. Επομένως, οι ασθενείς και οι οικογένειες εκτιμούν την ευκολία των θεραπειών που μπορούν να χορηγηθούν στο σπίτι. Οι ασθενείς εξέφρασαν επίσης την προθυμία να ανέχονται τις παρενέργειες των φαρμάκων: «Οι παρενέργειες θα πρέπει να είναι αρκετά κακές για να είναι χειρότερες από την ασθένεια.» Ενώ οι νέες θεραπείες για το hATTR προσφέρουν ελπίδα στους ασθενείς και τις οικογένειές τους, πολλοί ασθενείς εξέφρασαν επίσης ανησυχία για το πιθανό κόστος των θεραπειών. Ενώ η ιδέα της επιβράδυνσης, της διακοπής ή ακόμη και της αναστροφής της εξέλιξης της νόσου θεωρήθηκε κρίσιμη πρόοδος, οι ασθενείς σαφώς δεν ενδιαφερόταν να επιβαρύνουν οικονομικά ή να χρεοκοπήσουν τις οικογένειές τους για να πληρώσουν για αυτές τις θεραπείες (Conceição et al., 2019).

### **4.3. Συγκριτική κλινική αποτελεσματικότητα**

Η κλινική αποτελεσματικότητα του patisiran και του inotersen εξετάστηκε σε ασθενείς με hATTR σε σύγκριση με τη συνήθη φροντίδα. Οι διαφορές στα μέτρα πρωτογενούς έκβασης και στον πληθυσμό δοκιμών (π.χ. φυλή, γεωγραφική περιοχή, σοβαρότητα της νόσου) απέκλεισαν την άμεση σύγκριση της φάσης III APOLLO (patisiran) και NEURO-TTR (inotersen). Ως αποτέλεσμα, παρουσιάζονται παρακάτω δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα inotersen και patisiran σε σχέση με τις άλλες κλινικές δοκιμές (Benson et al., 2018).

#### **4.3.1. Inotersen**

Περιλαμβάνονται τέσσερις αναφορές που αξιολογούν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του inotersen. Μια δημοσίευση επιστημόνων και δύο παρουσιάσεις σε συνέδρια, ανέφεραν δεδομένα από τη δοκιμή φάσης III NEURO-TTR και η τέταρτη, μια δημοσίευση πλήρους κειμένου, περιελάμβανε καρδιακά δεδομένα από μια ανοιχτής δοκιμή που ξεκίνησε από έναν ερευνητή. Η NEURO-TTR ήταν μια φάση III τυχαιοποιημένη δοκιμή που αξιολόγησε τη

νευρολογική λειτουργία χρησιμοποιώντας τις κλίμακες mNIS + 7 Ionis και το Norfolk QOL-DN ως τα πρωταρχικά καταληκτικά σημεία μετά από 15 μήνες θεραπείας. Η σταθεροποίηση ορίστηκε ως αλλαγή 0 σημείων από το βασικό mNIS +7 (Gertz et al., 2019). Τα κριτήρια επιλεξιμότητας περιελάμβαναν τα FAP στάδια 1 και 2, βαθμολογίες NIS μεταξύ 10-130, θετική αμυλοειδή βιοψία και επαληθευμένες με γονότυπους μεταλλάξεις TTR. Οι ασθενείς που προηγουμένως έλαβαν μεταμόσχευση ήπατος ή που πληρούσαν κριτήρια για την τάξη  $\geq 3$  καρδιακής ανεπάρκειας της Νέας Υόρκης αποκλείστηκαν από τη δοκιμή. Ασθενείς που χρησιμοποιούν σταθεροποιητές TTR (π.χ. tafamidis, diflunisal) πριν από την εγγραφή στη μελέτη υποχρεώθηκαν να σταματήσουν τη θεραπεία πριν λάβουν την πρώτη τους δόση inotersen (14 και τρεις ημέρες πριν από την πρώτη δόση, αντίστοιχα) (Sekijima, 2015). Οι επιλέξιμοι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε αναλογία 2: 1 να λαμβάνουν είτε μία φορά την εβδομάδα 300 mg υποδόριες ενέσεις inotersen ή αντίστοιχο εικονικό φάρμακο. Η τυχαιοποίηση στρωματοποιήθηκε από το στάδιο της νόσου (FAP Στάδιο 1 έναντι 2), τη μετάλλαξη TTR (πρώιμη έναρξη Val30Met έναντι όλων των άλλων, συμπεριλαμβανομένης της καθυστέρησης έναρξης Val30Met) και την προηγούμενη χρήση των σταθεροποιητών TTR (tafamidis και / ή diflunisal). Όλοι οι ασθενείς έλαβαν συμπληρώματα βιταμίνης A στη συνιστώμενη ημερήσια δόση. Το NEURO-TTR ακολουθείται από μια συνεχιζόμενη ανοιχτή δοκιμή (OLE<sup>11</sup>) όπου όλοι οι ασθενείς θα λάβουν inotersen για έως και πέντε χρόνια (Coelho et al., 2013).

---

<sup>11</sup> ongoing open-label extension

### ***Κλινικά οφέλη***

Στη δοκιμή NEURO-TTR, η θεραπεία με inotersen επιβράδυνε την εξέλιξη της πολυνευροπάθειας σε σχέση με το εικονικό φάρμακο και την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια. Η στατιστικά σημαντική διαφορά θεραπείας στο mNIS + 7 αντικατοπτρίζει την εξέλιξη στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και την καθυστερημένη εξέλιξη στην ομάδα του inotersen, αν και πολλοί ασθενείς με inotersen ανέφεραν βελτιωμένες βαθμολογίες νευροπάθειας (Finsterer et al., 2019). Τα δεδομένα της ανοιχτής δοκιμής υποδηλώνουν καθυστέρηση της εξέλιξης της πολυνευροπάθειας, αν και η ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια μπορεί να μην είναι διαρκής. Τα καρδιακά τελικά σημεία δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ της ομάδας inotersen και της ομάδας εικονικού φαρμάκου μετά από 15 μήνες παρέμβασης. Ωστόσο, η δοκιμή δεν ήταν δυνατή για την ανίχνευση διαφορών επιπτώσεων στα καρδιακά αποτελέσματα. Μια μικρή ανοιχτή μελέτη με ένα χέρι δείχνει ελάχιστη επιδείνωση της μάζας της αριστερής κοιλίας (Mankad & Shah, 2017).

### ***Νευρολογική βελτίωση και ποιότητα ζωής***

Τα κύρια αποτελέσματα ήταν η αλλαγή στο τροποποιημένο Neuropathy Impairment Score + 7 (mNIS + 7, με υψηλότερες βαθμολογίες που δείχνουν κακή λειτουργία) και η αλλαγή στο σκορ στο ερωτηματολόγιο Norfolk Quality of Life-Diabetic Neuropathy (QOL-DN) που αναφέρθηκε από τον ασθενή (με υψηλότερες βαθμολογίες που δείχνουν κακή ποιότητα ζωής). Μια μείωση στις βαθμολογίες έδειξε βελτίωση. Οι ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε NEURO-TTR inotersen παρουσίασαν στατιστικά σημαντική καθυστέρηση στην εξέλιξη της νευροπάθειας σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, όπως μετρήθηκε με το mNIS + 7 Ionis (μέση διαφορά ελάχιστων τετραγώνων [LSM]: -19,7 μονάδες, 95% CI -26,4 έως to13.0) (Gertz, 2017). Σημαντικά περισσότεροι ασθενείς στην ομάδα inotersen εμφάνισαν βελτιώσεις mNIS + 7 Ionis σε σύγκριση με την έναρξη μετά από 18 μήνες θεραπείας. Η θεραπεία με inotersen βελτίωσε επίσης την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια, όπως φαίνεται από τις βαθμολογίες Norfolk-QOL-DN, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Σημαντικά περισσότεροι ασθενείς που έλαβαν inotersen ανέφεραν βελτιωμένη ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια μετά από 15 μήνες θεραπείας σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Στατιστικά σημαντικές βελτιώσεις που σχετίζονται με τη νευροπάθεια παρατηρήθηκαν στην ποιότητα ζωής με τη χρήση inotersen σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο οι οποίες αναφέρθηκαν στη φυσική λειτουργία / νευροπάθεια μεγάλων ινών, δραστηριότητες καθημερινής ζωής και τομείς συμπτωμάτων ( $p \leq 0,001$ ). Ωστόσο, οι βελτιώσεις στους τομείς ποιότητας ζωής νευροπάθειας μικρών ινών και αυτόνομης λειτουργίας δεν ήταν στατιστικά σημαντικές (Waddington-Cruz et al., 2018).

### ***Καρδιακά αποτελέσματα***

Η εκτίμηση των καρδιακών ειδικών αποτελεσμάτων σε αυτήν τη δοκιμή ήταν περιορισμένη καθώς η μελέτη δεν είχε ισχύ για αυτά τα τελικά σημεία. Οι ασθενείς NEURO-TTR με καρδιακή εμπλοκή ορίστηκαν ως εκείνοι με πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος  $\geq 1,3$  cm. Δεν υπήρχαν ενδείξεις βελτίωσης έναντι του εικονικού φαρμάκου σε διαμήκες στέλεχος ή άλλα ηχοκαρδιογραφικά μέτρα, όπως κλάσμα εξώθησης, πάχος οπίσθιου τοιχώματος και μάζα αριστερής κοιλίας, με θεραπεία με inotersen μετά από 15 μήνες (Mickle et al., 2019).



### *Εξέλιξη της νόσου*

Πενήντα οκτώ τοις εκατό των ασθενών που έλαβαν inotersen και 65% των ασθενών με εικονικό φάρμακο ανέφεραν βελτιώσεις ή σταθεροποίηση στη βαθμολογία PND. Συγκρίσιμα ποσοστά ασθενών στις δύο ομάδες ανέφεραν επιδείνωση του σταδίου της νόσου. Αυτά τα αποτελέσματα δεν συγκρίθηκαν στατιστικά, ωστόσο, και τα δεδομένα έλειπαν για σχεδόν το ένα τέταρτο της ομάδας inotersen (Mathew & Wang, 2019).

### *Άλλα αποτελέσματα*

Η θεραπεία με inotersen δεν είχε ως αποτέλεσμα σημαντικές διαφορές στο mBMI σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Κατά τη δημοσίευση αυτού του σχεδίου έκθεσης, δεν έχουν εντοπιστεί στοιχεία σχετικά με τον αντίκτυπο του inotersen στη θνησιμότητα ή την επιβίωση. Η θνησιμότητα αναφέρθηκε αποκλειστικά ως αποτέλεσμα ασφάλειας (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019).

### **4.3.2. Patisiran**

Περιλαμβάνονται 15 αναφορές σε δοκιμές patisiran. Δύο δημοσιεύσεις από ομότιμους κριτές, τέσσερις παρουσιάσεις σε συνέδρια και τέσσερις αφίσες συνεδρίων παρουσίασαν δεδομένα από τη δοκιμή APOLLO Φάση III. Μία δημοσίευση από ερευνητές ανέφερε τα αποτελέσματα μιας μελέτης δόσης Φάσης II, και μία παρουσίαση αναφέρθηκε στη Φάση II OLE. Και τα δύο ανέφεραν ευρήματα από την τρέχουσα παγκόσμια μελέτη OLE, συμπεριλαμβανομένων ασθενών από τη Φάση II και τη Φάση III δοκιμές. Η APOLLO ήταν μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή Φάσης III που αξιολόγησε τη νευρολογική λειτουργία χρησιμοποιώντας το mNIS + 7 ως το κύριο αποτέλεσμα μετά από 18 μήνες θεραπείας (Benson et al., 2018). Η ανταπόκριση στη θεραπεία ορίστηκε ως αύξηση μικρότερη από 10 μονάδες από την αρχική τιμή στο mNIS + 7 στους 18 μήνες. Στη δοκιμή συμμετείχαν 225 ασθενείς με hATTR με τεκμηριωμένη παθογόνο μετάλλαξη στην TTR, ηλικίας 18-85, με βαθμολογίες NIS κυμαινόμενες από 5-130. Οι ασθενείς υποχρεώθηκαν να πληρούν την κατάσταση απόδοσης του Karnofsky  $\geq 60\%$ , τη βαθμολογία PND  $\leq$  IIIb, είχαν αναμενόμενη επιβίωση τουλάχιστον δύο ετών, επαρκείς μετρήσεις αίματος (π.χ. απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων  $\geq 1.500$  κύτταρα / mm<sup>3</sup> και αριθμός αιμοπεταλίων  $\geq$

50.000 κύτταρα / mm<sup>3</sup>, ηπατική λειτουργία ( επίπεδα ασπαρτικής τρανσαμινάσης και τρανσαμινάσης αλανίνης  $\leq 2,5 \times$  ανώτατο όριο φυσιολογικού · συνολικά επίπεδα χολερυθρίνης εντός φυσιολογικών ορίων · διεθνής ομαλοποιημένη αναλογία  $\leq 2,0$ ) και να είναι απαλλαγμένοι από μόλυνση από ηπατίτιδα Β και C (Kristen et al., 2019).

Οι ασθενείς αποκλείστηκαν εάν είχαν ιστορικό μεταμόσχευσης ήπατος, υπεθυρεοειδισμό λοίμωξη από HIV, κακοήθεια τα προηγούμενα δύο χρόνια (εκτός από το καρκίνωμα των πλακωδών κυττάρων ή το καρκίνωμα in situ του τραχήλου της μήτρας που αντιμετωπίστηκε επιτυχώς), σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 ή 2, ανεξέλεγκτη καρδιακή αρρυθμία ή ασταθή στηθάγχη, οξεία στεφανιαίο σύνδρομο τρεις μήνες, ταξινόμηση NYHA > 2 ή παραλαβή μιας συσκευής διερεύνησης. Οι συμμετέχοντες που έλαβαν diflunisal ή tafamidis πριν από την εγγραφή ήταν υποχρεωμένοι να σταματήσουν τη χρήση σταθεροποιητή 3 και 14 ημέρες, αντίστοιχα, πριν λάβουν την πρώτη δόση patisiran (Adams et al., 2018). Οι επιλέξιμοι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν 2: 1 για να λάβουν είτε 0,3 mg / kg patisiran σε ενδοφλέβια έγχυση κάθε τρεις εβδομάδες ή αντίστοιχο εικονικό φάρμακο για 18 μήνες. Η τυχαιοποίηση στρωματοποιήθηκε με προηγούμενη χρήση σταθεροποιητή TTR, βαθμολογία NIS (5-49 έναντι 50-130) και Val30Met πρώιμης έναρξης (ορίζεται ως πριν από την ηλικία των 50) έναντι όλων των άλλων μεταλλάξεων, συμπεριλαμβανομένου του Val30Met αργής έναρξης. Πριν από κάθε έγχυση και στις δύο ομάδες πραγματοποιήθηκε ένεση δεξαμεθαζόνης, χορήγησηακεταμινοφαίνης (από τη στοματική οδό), ενός αποκλειστή H2 και ενός αποκλειστή H1 (Mickle et al., 2019).

Παρατηρήθηκαν αρκετές διαφορές μεταξύ των ομάδων patisiran και εικονικού φαρμάκου κατά την έναρξη, οι οποίες μπορεί να επηρέασαν τη συγκρισιμότητα των δύο ομάδων. Πρώτον, υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αναλογία των ασθενών με Val30Met (38% των patisiran έναντι 52% του εικονικού φαρμάκου) μεταξύ των δύο ομάδων ( $p < 0,05$ ). Δεύτερον, η μέση βαθμολογία NIS μεταξύ των ασθενών με patisiran ήταν 3,5 μονάδες υψηλότερη, υποδεικνύοντας πιο σοβαρή εξασθένηση, σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Μια διαφορά 2 πόντων στη βαθμολογία NIS θεωρείται κλινικά σημαντική (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019). Οι ασθενείς στρωματοποιήθηκαν κατά την τυχαιοποίηση με βαθμολογίες NIS <50 και  $\geq 50$ , ωστόσο, οι μέσες βαθμολογίες NIS ομάδας εικονικού φαρμάκου και patisiran δεν συγκρίθηκαν στατιστικά. Τρίτον, υπήρξε απόλυτη διαφορά 14% στην αναλογία των ασθενών με καρδιακή εμπλοκή μεταξύ των ομάδων patisiran (61%) και εικονικού

φαρμάκου (47%). Αυτή η διαφορά δεν αξιολογήθηκε ως στατιστικά σημαντική. Αυτοί οι παράγοντες υποδηλώνουν την πιθανότητα ανισορροπιών στη σοβαρότητα της βασικής νόσου και στο ιστορικό μεταξύ των δύο ομάδων. Οι στατιστικές αναλύσεις ελέγχθηκαν για ορισμένες, αλλά όχι για όλες αυτές τις διαφορές (Vita et al., 2019).

Παρατηρήθηκε επίσης μια διαφορά στο ποσοστό των ασθενών με patisiran και εικονικό φάρμακο που ολοκλήρωσαν τη μελέτη, με το 7% του patisiran και το 29% των ασθενών με εικονικό φάρμακο να διακόψουν τη μελέτη. Οι διαφορές στους λόγους διακοπής περιελάμβαναν ΑΕ (9% του εικονικού φαρμάκου έναντι 2% των ασθενών με patisiran) και εξέλιξη της νόσου (5% του εικονικού φαρμάκου έναντι <1% των ασθενών με patisiran), που ορίζονται ως αύξηση  $\geq 24$  μονάδων στο mNIS + 7 από την αρχική φάση και την εξέλιξη του σταδίου FAP σε σχέση με την έναρξη στους εννέα μήνες (Zhang, Goel & Robbie, 2020).

### ***Κλινικά οφέλη***

Τα δεδομένα από τη δοκιμή APOLLO Φάση III δείχνουν στοιχεία λειτουργικής βελτίωσης, όπως μετράται από την ικανότητα των ασθενών να περπατούν. Ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με patisiran ανέφεραν σταθερό ή βελτιωμένο στάδιο νευροπάθειας. Τα δεδομένα του APOLLO καταδεικνύουν μια στατιστικά σημαντική μέση βελτίωση στη νευρολογική λειτουργία και την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια με θεραπεία με patisiran σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Περίπου οι μισοί ασθενείς με patisiran παρουσίασαν νευρολογική βελτίωση με βαθμολογία mNIS + 7 (Emdin et al., 2019). Τα *post-hoc* στοιχεία δείχνουν μειωμένο κίνδυνο για το σύνθετο τελικό σημείο της θνησιμότητας όλων των αιτιών και τη νοσηλεία μεταξύ εκείνων με καρδιακή εμπλοκή. Τα βασικά δεδομένα δείχνουν στατιστικά σημαντικές ανισορροπίες στον γονότυπο TTR και δυνητικά κλινικά σχετικές διαφορές στη σοβαρότητα της νόσου με άγνωστη στατιστική σημασία μεταξύ των ομάδων patisiran και εικονικού φαρμάκου, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν τη γενικευσιμότητα της μελέτης (Benson, Dasgupta & Monia, 2019).

### ***Νευρολογική βελτίωση και ποιότητα ζωής***

Το πρωταρχικό αποτέλεσμα ξεπέρασε την αλλαγή από την αρχική τιμή στο τροποποιημένο Neuropathy Impairment Score + 7 (mNIS + 7, με υψηλότερες βαθμολογίες που υποδηλώνουν περισσότερη εξασθένηση) στους 18 μήνες. Μετά από 18 μήνες θεραπείας, το patisiran έδειξε μια μέση βελτίωση με ελάχιστα τετράγωνα (LS) 34,0 σημεία (95% CI -39,9 έως -28,1) στο mNIS + 7 σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, οι ασθενείς με patisiran βελτιώθηκαν κατά μέσο όρο -6,0 μονάδες, ενώ οι ασθενείς με εικονικό φάρμακο επιδεινώθηκαν κατά 28,0 μονάδες (Karoor et al., 2019). Η «δυναδική» ανάλυση (βελτίωση έναντι μη βελτίωσης) της βαθμολογίας mNIS + 7 δείχνει ότι το 56% των ασθενών με patisiran παρουσίασαν νευρολογική βελτίωση, οριζόμενη ως μείωση της βαθμολογίας mNIS + 7, έναντι 4% των ασθενών με εικονικό φάρμακο (αναλογία πιθανότητας: 39,9, 95% CI 11,0 έως 144.4,  $p < 0.0001$ ). Στατιστικά σημαντικές βελτιώσεις στο συστατικό mNIS + 7 που ευνοούν το patisiran παρατηρήθηκαν και στις πέντε υπο-βαθμολογίες που κάλυπταν τη μυϊκή αδυναμία, την αισθητηριακή λειτουργία, τα αντανακλαστικά, τη νευρική αγωγιμότητα και την αρτηριακή πίεση του σώματος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Τα θεραπευτικά αποτελέσματα του patisiran φαίνεται να αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου. βελτίωση κατά τους μήνες 10 έως 18 ήταν διπλάσια από τους πρώτους εννέα μήνες (4 έναντι 2 μονάδων) (Gales, 2019). Η ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια που μετρήθηκε από το Norfolk-QOL-DN επίσης βελτιώθηκε σημαντικά μετά από 18 μήνες θεραπείας με patisiran σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (-6,7 έναντι +14,4 μονάδες,  $p < 0,001$  · η μείωση αντικατοπτρίζει τη βελτίωση. Οι μεμονωμένοι τομείς Norfolk-QOL-DN δείχνουν ότι οι ασθενείς με patisiran ανέφεραν μέτριες βελτιώσεις σε τρεις τομείς νευροπάθειας μετά από 18 μήνες θεραπείας: φυσική λειτουργία / νευροπάθεια μεγάλων ινών, συμπτώματα και αυτόνομη, αν και δεν υπήρχε στατιστική ανάλυση. Οι ασθενείς με εικονικό φάρμακο ανέφεραν επιδείνωση των βαθμολογιών Norfolk-QOL-DN και στους πέντε τομείς. Αυτή η επιδείνωση ήταν ο κύριος μοχλός των διαφορών που παρατηρήθηκαν μεταξύ των ομάδων patisiran και εικονικού φαρμάκου (Adams & Slama, 2020).

### ***Καρδιακά αποτελέσματα***

Τα καρδιακά αποτελέσματα αξιολογήθηκαν ως διερευνητικά τελικά σημεία μεταξύ μιας υποομάδας ασθενών με πάχος τοιχώματος αριστερής κοιλίας  $\geq 13$  mm κατά την έναρξη και χωρίς ιατρικό ιστορικό ασθένειας αορτικής βαλβίδας ή υπέρτασης. Δυσανάλογα περισσότεροι

ασθενείς με patisiran πληρούσαν αυτά τα κριτήρια σε σύγκριση με τους ασθενείς με εικονικό φάρμακο (90 [61%] έναντι 36 [47%], αντίστοιχα). Παρατηρήθηκαν επίσης πιθανές ανισοροπίες μεταξύ των ασθενών με patisiran και εικονικού φαρμάκου στο υποσύνολο με καρδιακή εμπλοκή, συμπεριλαμβανομένης της πιο σοβαρής πολυνευροπάθειας (βαθμολογία NIS) και των ασθενών FAP σταδίου 2 στην ομάδα εικονικού φαρμάκου και περισσότερων ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια NYHA κατηγορίας II στην ομάδα patisiran (Buxbaum, 2019). Οι ασθενείς με patisiran με καρδιακή εμπλοκή ήταν παρόμοιοι με όλους τους ασθενείς στη δοκιμή στην αρχική πολυνευροπάθεια και στο στάδιο της νόσου, αλλά εμφάνισαν σοβαρότερη καρδιακή ανεπάρκεια. Οι ασθενείς με εικονικό φάρμακο είχαν πολύ χειρότερο στάδιο πολυνευροπάθειας και νόσου σε σύγκριση με όλους τους ασθενείς που δοκιμάστηκαν. Εξετάσαμε τα δεδομένα APOLLO NT-pro-BNP, ένα διερευνητικό τελικό σημείο, καθώς αυτός ο βιοδείκτης έχει αποδειχθεί ότι προβλέπει τη θνησιμότητα σε ασθενείς με hATTR με καρδιακή εμπλοκή. Το NT-proBNP μειώθηκε μετρίως κατά μέσο όρο 49,9 ng / L με θεραπεία με patisiran σε σύγκριση με αυξήσεις στις συγκεντρώσεις στο αίμα (διάμεση τιμή 320,4 ng / L) στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Αυτή η διαφορά θεραπείας ήταν στατιστικά σημαντική (διαφορά: 370,2,  $p < 0,0001$ ) (Berk, Barroso & Coelho, 2018). Ωστόσο, η μέση συγκέντρωση NT-proBNP και στις δύο ομάδες πριν από την έναρξη της θεραπείας καθώς και μετά από 18 μήνες θεραπείας ήταν κάτω από το όριο των 3.000 ng / L που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θανάτου (Πίνακας 3.8). Σχεδόν το ένα τρίτο (31,6%) των ασθενών με patisiran εμφάνισαν βελτιωμένα επίπεδα NT-proBNP (ορίζονται ως  $\geq 30\%$  και μείωση 300mg / L στους 18 μήνες), σχεδόν οι μισοί (47,3%) παρέμειναν σταθεροί και οι υπόλοιποι ασθενείς (21,1%) είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις NT-proBNP μετά από 18 μήνες θεραπείας. Ωστόσο, δεν ήταν διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με την αναλογία των ασθενών με εικονικό φάρμακο και patisiran με κλινικά σχετικά επίπεδα NT-proBNP (δηλαδή  $> 3.000\text{ng} / \text{L}$  έναντι  $< 3.000\text{ng} / \text{L}$ ) έως 18 μήνες θεραπείας. Επιπλέον, δεν ήταν διαθέσιμα δεδομένα από τη χρήση διουρητικών, τα οποία θα μπορούσαν επίσης να μειώσουν τα επίπεδα NT-pro BNP (Macedo et al., 2020).

### ***Εξέλιξη της νόσου***

Το στάδιο FAP παρέμεινε σταθερό σχεδόν στα τρία τέταρτα (76%) των ασθενών με patisiran και πέντε ασθενείς (3%) ανέφεραν βελτιωμένο στάδιο FAP. Κανείς ασθενής με εικονικό φάρμακο δεν ανέφερε βελτιωμένο στάδιο FAP. Όπως αξιολογήθηκε από τη βαθμολογία PND, η διέγερση

βελτιώθηκε σε 12 (8%) ασθενείς με patisiran. Κανένας ασθενής με εικονικό φάρμακο δεν ανέφερε βελτιωμένη διέγερση. Από εκείνους των οποίων η διέγερση επιδεινώθηκε, πέντε φορές περισσότεροι ασθενείς με εικονικό φάρμακο προχώρησαν σε δύο στάδια PND σε σύγκριση με τους ασθενείς με patisiran (50% έναντι 10%, αντίστοιχα). Τα μέτρα εξέλιξης της νόσου δεν συγκρίθηκαν στατιστικά (Ando et al., 2013).

### ***Άλλα αποτελέσματα***

Τα δεδομένα έδειξαν ότι οι ασθενείς με patisiran παρουσίασαν στατιστικά σημαντική σταθεροποίηση της διατροφικής κατάστασης σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (διαφορά θεραπείας LSM: 115,7 kg / m<sup>2</sup> x g / L, p <0,0001). Πολύ περισσότεροι ασθενείς με patisiran παρουσίασαν βελτιωμένη mBMI, που ορίστηκε ως > 0 kg / m<sup>2</sup> x g / L, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (41% έναντι 7%, αντίστοιχα), αν και δεν αναφέρθηκαν αποτελέσματα στατιστικών δοκιμών. Δεν υπάρχει ορισμός της ελάχιστης αλλαγής στο mBMI που είναι κλινικά σημαντική. Η θνησιμότητα αξιολογήθηκε μόνο ως τελικό σημείο ασφαλείας. Ωστόσο, πρόσφατα παρουσιάστηκε μια *post-hoc* ανάλυση των δεδομένων θνησιμότητας και νοσηλείας (και πρόσθετα δεδομένα εμπιστευτικά) για τον καρδιακό υποπληθυσμό (Adams et al., 2019). Υπήρχε περίπου 50% μείωση στο σύνθετο ποσοστό νοσηλείας όλων των αιτιών και θνησιμότητας (patisiran: 34,7 [95% CI: 27,5 έως 43,1], εικονικό φάρμακο: 71,8 [95% CI: 56,1 έως 90,1], HR: 0,48 [95 % CI 0,30 έως 0,79]) που παρατηρήθηκε για το patisiran σε σχέση με το εικονικό φάρμακο. Υπήρχε επίσης μια τάση που αναφέρθηκε για το σύνθετο της νοσηλείας του καρδιαγγειακού συστήματος και της θνησιμότητας όλων των αιτιών, αν και τα ευρήματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά. Ωστόσο, δεν προσδιορίστηκε καμία ανάλυση της θνησιμότητας όλων των αιτιών, ούτε βρέθηκε καμία περιγραφή για το εάν ή πώς ελέγχονταν οι βασικές διαφορές σε αυτήν την ανάλυση. Επιπλέον, ο πληθυσμός της δοκιμής είχε λίγους ασθενείς που κυριαρχούν στην καρδιομυοπάθεια, οι οποίοι μπορεί να αντιπροσωπεύουν ανεπαρκώς καρδιακά αποτελέσματα σε αυτούς τους ασθενείς (Yang, 2019).

### ***Περίληψη και σχόλια***

Οι περιορισμοί των κλινικών ενδείξεων inotersen και patisiran περιλαμβάνουν πληθυσμούς μελέτης που περιορίζουν τη γενικευσιμότητα των κλινικών αποτελεσμάτων σε όλους τους ασθενείς με hATTR, μέτρα κλινικής έκβασης (mNIS + 7 και Norfolk-QOL-DN) χωρίς

καθορισμένα όρια για κλινική σημασία, περιορισμένα λειτουργικά αποτελέσματα όπως το στάδιο της νόσου εξέλιξη και περιορισμένα δεδομένα για ασθενείς με καρδιακή εμπλοκή, ιδιαίτερα μεταξύ καρδιακών κυρίαρχων ασθενών που διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο θνησιμότητας από ασθενείς με κυρίαρχο νευροπάθεια (Ruberg et al., 2019). Και για τα δύο φάρμακα, δεν ήταν δυνατή η ερμηνεία της κλινικής σημασίας των αλλαγών στην πολυνευροπάθεια που μετρήθηκαν με το mNIS + 7 και την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια (Norfolk-QOL-DN) χωρίς καθορισμένα όρια για ουσιαστική κλινική αλλαγή. Παρόλο τους περιορισμούς, βρέθηκαν τα ακόλουθα στην ανασκόπηση των κλινικών στοιχείων (Mickle et al., 2019):

### **Inotersen**

- Και οι δύο βασικές εκτιμήσεις αποτελεσματικότητας (πολυνευροπάθεια [mNIS + 7] και η ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια [Norfolk-QOL-DN] ευνόησαν το inotersen. Κατά μέσο όρο, η νευροπάθεια των ασθενών με inotersen παρέμεινε σταθερή ενώ η νευροπάθεια των ασθενών με εικονικό φάρμακο επιδεινώθηκε.
- 36% των ασθενών στην ομάδα inotersen είχαν βελτίωση (χωρίς αύξηση από την έναρξη) στο mNIS + 7 Το Ionisand και το 50% είχε βελτίωση στη βαθμολογία Norfolk QOL-DN.
- Και οι δύο βασικές εκτιμήσεις αποτελεσματικότητας (πολυνευροπάθεια [mNIS + 7] και η ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια [Norfolk-QOL-DN] ευνόησαν το inotersen. Κατά μέσο όρο, η νευροπάθεια των ασθενών με inotersen παρέμεινε σταθερή ενώ η νευροπάθεια των ασθενών με εικονικό φάρμακο επιδεινώθηκε (Mathew & Wang, 2019).
- Σχετικά με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα, δεν υπάρχουν ενδείξεις για βελτιωμένη σταθεροποίηση της εξέλιξης της νόσου, όπως μετράται με τη βαθμολογία PND.
- Δυνατότητα για συνεχιζόμενη καθυστερημένη εξέλιξη της πολυνευροπάθειας και μείωση της ποιότητας ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια μέσω σχεδόν δύο ετών θεραπείας με inotersen.
- Πιθανά σήματα ασφαλείας, συμπεριλαμβανομένης της θρομβοπενίας και της σπειραματονεφρίτιδας. Ένας από τους πέντε θανάτους μεταξύ inotersen ασθενών στο NEURO-TTR θεωρείται πιθανώς σχετιζόμενος με τα φάρμακα. Σε σχέση με τους

ασθενείς με εικονικό φάρμακο, οι ασθενείς με inotersen είχαν πιο ευνοϊκά αποτελέσματα στα μέτρα mNIS + 7 και NorfolkQOL-DN (Alexander, Evangelisti & Witteles, 2019).

Ωστόσο, κατά μέσο όρο, οι ασθενείς με inotersen δεν παρουσίασαν βελτίωση από την έναρξη στα συμπτώματα νευροπάθειας, όπως μετρήθηκε με το mNIS + 7, αλλά μάλλον επιβράδυνση στην επιδείνωση της νευροπάθειας σε σχέση με το εικονικό φάρμακο. Όσον αφορά την ασφάλεια, παραμένει κάποια αβεβαιότητα δεδομένου ότι: 1. Όλοι οι θάνατοι στη δοκιμή Φάσης III σημειώθηκαν, ένας από τους οποίους θεωρήθηκε πιθανώς σχετιζόμενος με τα φάρμακα, 2. άλλα αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια (nusinersen, volanesorsen) έχουν δείξει παρόμοιους κινδύνους θρομβοπενίας και 3 (Mankad & Shah, 2017). αντισώματα αντι-ιντερνεσίνης αναφέρθηκαν στο 30,4% των ασθενών NEURO-TTR, η μακροχρόνια σημασία των οποίων είναι άγνωστη σε αυτό το σημείο. Το βελτιωμένο πρωτόκολλο παρακολούθησης που προστέθηκε στη δοκιμή παρέχει κάποια διαβεβαίωση ότι μπορεί να αντιμετωπιστεί ο κίνδυνος θρομβοπενίας. Ωστόσο, οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις των άλλων προβλημάτων ασφάλειας και αντισωμάτων είναι επί του παρόντος άγνωστες. Συνοπτικά, υπάρχει μέτρια βεβαιότητα ενός συγκρίσιμου, μικρού ή ουσιαστικού καθαρού οφέλους για την υγεία σε σχέση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα, με υψηλή βεβαιότητα τουλάχιστον ενός συγκρίσιμου καθαρού οφέλους για την υγεία και, ως εκ τούτου, βαθμολογούμε τα κλινικά στοιχεία για το inotersen να είναι συγκρίσιμα ή καλύτερα ( C +; σημειώστε ότι το ICER δεν αλλάζει την προσέγγισή του ως προς τα στοιχεία αξιολόγησης για εξαιρετικά σπάνιες συνθήκες) (Finsterer et al., 2019).

## **Patisiran**

- Μέση βελτίωση της πολυνευροπάθειας (mNIS + 7) και της ποιότητας ζωής που σχετίζεται με τη νευροπάθεια (Norfolk-QOL-DN), με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα (εικονικό φάρμακο).
- Βασικές ανισοροπίες στον γονότυπο TTR και κλινικά σημαντικές διαφορές στη σοβαρότητα της νόσου (με βάση τα NIS) μεταξύ ομάδων patisiran και εικονικού φαρμάκου, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν την εγκυρότητα και τη γενικευσιμότητα της μελέτης.



- Το διερευνητικό τελικό σημείο της νευροπάθειας είναι σταθερό ή βελτιωμένο σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα (εικονικό φάρμακο) (Coelho et al., 2013).
- Στατιστικά σημαντικές ενδείξεις μειωμένου καρδιακού βιοδείκτη (NT-proBNP) με ασαφή κλινική σημασία.
- *Post-hoc* ενδείξεις για στατιστικά σημαντική μείωση του σύνθετου ποσοστού νοσηλείας όλων των αιτιών και θνησιμότητας σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα μεταξύ ασθενών με καρδιακή εμπλοκή.
- Σε γενικές γραμμές, μειωμένη συχνότητα των ΑΕ σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα. Δεν υπάρχουν διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των θεραπευτικών βραχιόνων, αλλά όλοι οι θάνατοι στο σκέλος του patisiran είχαν καρδιαγγειακό χαρακτήρα, ένα φαινόμενο που δεν έχει εξηγηθεί διαφορετικά (Finsterer et al., 2019).

Πιθανό σήμα ασφαλείας πλήρους καρδιακού αποκλεισμού, αν και μπορεί να παρατηρηθεί καρδιακός αποκλεισμός με καρδιακή εμπλοκή στο hATTR. Κατά μέσο όρο, οι ασθενείς με patisiran παρουσίασαν βελτίωση στα συμπτώματα της νευροπάθειας, όπως μετρήθηκε με το mNIS + 7. Όσον αφορά την ασφάλεια, ο κίνδυνος ταυτόχρονης χορήγησης στεροειδών θεωρήθηκε χαμηλός έως μέτριος, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ασθενούς, με βάση την ανάλογη χρήση στεροειδών σε άλλες θεραπευτικές περιοχές (Mankad & Shah, 2017). Ενώ το ποσοστό θανάτου δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων που έλαβαν θεραπεία και του εικονικού φαρμάκου, το συμπέρασμα ότι όλοι οι θάνατοι στην ομάδα του patisiran σχετίζονται με καρδιαγγειακά είναι μια επιπλέον αβεβαιότητα που σχετίζεται με τη χρήση του patisiran και υπήρξε μικρή εξήγηση αυτού του φαινομένου στη δοκιμή δημοσίευση ή άλλο υλικό (Benson et al., 2018). Τέσσερις περιπτώσεις καρδιακού αποκλεισμού παρατηρήθηκαν μεταξύ των ασθενών με patisiran και ενώ αυτό το εύρημα αντιπροσωπεύει ένα πιθανό σήμα ασφαλείας, θα μπορούσε επίσης να αντιπροσωπεύει την εξέλιξη της νόσου. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν περιπτώσεις καρδιακού αποκλεισμού μεταξύ των ασθενών με εικονικό φάρμακο. Συνοπτικά, υπάρχει μέτρια βεβαιότητα ενός σημαντικού καθαρού οφέλους για την υγεία με υψηλή βεβαιότητα τουλάχιστον ενός μικρού καθαρού οφέλους για την υγεία σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική φροντίδα και, ως εκ τούτου,

εκτιμούμε ότι τα κλινικά στοιχεία για το patisiran είναι αυξητικό ή καλύτερο ("B +") (Gertz, 2017).

## 5. Συμπεράσματα

Η κληρονομική αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης είναι μια σπάνια, προοδευτική και θανατηφόρα ασθένεια που παρουσιάζει με ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων, καθιστώντας δύσκολη την ακριβή περιγραφή του φυσικού ιστορικού. Η διάγνωση μπορεί να παραβλεφθεί εύκολα καθώς οι ασθενείς παρουσιάζουν συχνά κοινά και μη ειδικά συμπτώματα και υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με το φυσικό ιστορικό της αμυλοείδωσης ATTRm. Η διάγνωση της καρδιακής αμυλοείδωσης ATTR είναι δύσκολη. Η ακριβής διάγνωση του τύπου αμυλοειδούς σε ασθενείς με φαινομενικά απομονωμένη καρδιακή νόσο είναι υψίστης σημασίας. Η καρδιακή AL αμυλοείδωση και το ATTRwt είναι ξεχωριστές ασθένειες με πολύ διαφορετικά αποτελέσματα και θεραπεία. Η επιβίωση στο ATTRwt είναι πολύ ανώτερη από την καρδιακή αμυλοείδωση AL και η χημειοθεραπεία είναι ακατάλληλη σε απομονωμένο ATTRwt. Το Troponin T, η ανάγκη για βηματοδότη και η σοβαρή λειτουργική βλάβη (συμπτώματα NYHA κατηγορίας IV) σχετίζονται με κακή έκβαση. Έχει δημιουργηθεί ένας αλγόριθμος που περιγράφει τη διαγνωστική διαδικασία μόλις ένας ασθενής διαγνωστεί με καρδιακό αμυλοειδές και χρησιμοποιεί την ηλικία του ασθενούς κατά τη διάγνωση και το επίπεδο του NT pro-BNP για να βοηθήσει στη διάκριση μεταξύ των 2 ομάδων ασθενειών σε ασθενείς με απομονωμένη καρδιακή νόσο και ανιχνεύσιμη. Ωστόσο, το χρυσό πρότυπο είναι μια ιστολογική διάγνωση.

Η θεραπεία με βάση το RNA patisiran και inotersen για hATTR αντιπροσωπεύει μια σημαντική πρόοδο στη θεραπεία μιας σπάνιας γενετικής διαταραχής με υψηλή ανεκπλήρωτη ανάγκη. Ωστόσο, παρά την εξέταση πιθανών ευρύτερων οφελών και των συμφραζομένων στοιχείων που σχετίζονται με τη θεραπεία μιας εξαιρετικά σπάνιας διαταραχής, η τιμολόγηση αυτών των φαρμάκων στο σύστημα υγειονομικής περίθαλψης των ΗΠΑ κρίθηκε ότι αντιπροσωπεύει χαμηλή μακροπρόθεσμη αξία για τα χρήματα. Απαιτούνται περαιτέρω προσπάθειες για την ευθυγράμμιση της τιμής αυτών των θεραπειών με τα αποδεδειγμένα οφέλη τους, προκειμένου να διασφαλιστεί η βιώσιμη πρόσβαση σε φροντίδα υψηλής αξίας για όλους τους ασθενείς.

## 6. Βιβλιογραφία

1. Adams, D., & Slama, M. (2020). Hereditary transthyretin amyloidosis: current treatment. *Current Opinion in Neurology*, 33(5), 553-561.
2. Adams, D., Gonzalez-Duarte, A., O’Riordan, W. D., Yang, C. C., Ueda, M., Kristen, A. V. & Lin, K. P. (2018). Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis. *New England Journal of Medicine*, 379(1), 11-21.
3. Adams, D., Koike, H., Slama, M., & Coelho, T. (2019). Hereditary transthyretin amyloidosis: a model of medical progress for a fatal disease. *Nature reviews. Neurology*
4. Alexander, K. M., Evangelisti, A., & Witteles, R. M. (2019). Emerging therapies for transthyretin cardiac amyloidosis. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, 21(8), 40.
5. Alexander, K. M., Evangelisti, A., & Witteles, R. M. (2019). Emerging Therapies for Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Current treatment options in cardiovascular medicine*, 21(8)
6. Ando, Y., Coelho, T., Berk, J. L., Cruz, M. W., Ericzon, B. G., Ikeda, S., Lewis, W. D., Obici, L., Planté-Bordeneuve, V., Rapezzi, C., Said, G., & Salvi, F. (2013). Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. *Orphanet journal of rare diseases*, 8, 31. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-31>
7. Benson, M. D., Dasgupta, N. R., & Monia, B. P. (2019). Inotersen (transthyretin-specific antisense oligonucleotide) for treatment of transthyretin amyloidosis. *Neurodegenerative disease management*, 9(1), 25-30.
8. Benson, M. D., Waddington-Cruz, M., Berk, J. L., Polydefkis, M., Dyck, P. J., Wang, A. K., & Scheinberg, M. (2018). Inotersen treatment for patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *New England Journal of Medicine*, 379(1), 22-31.
9. Benson, M. D., Waddington-Cruz, M., Berk, J. L., Polydefkis, M., Dyck, P. J., Wang, A. K., Planté-Bordeneuve, V., Barroso, F. A., Merlini, G., Obici, L., Scheinberg, M., Brannagan, T. H., 3rd, Litchy, W. J., Whelan, C., Drachman, B. M., Adams, D., Heitner, S. B., Conceição, I., Schmidt, H. H., Vita, G., ... Coelho, T. (2018). Inotersen Treatment for Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *The New England journal of medicine*, 379(1), 22–31.

10. Berk, J. L., Barroso, F. A., & Coelho, T. (2018). Oligonucleotide Drugs for Transthyretin Amyloidosis. *The New England journal of medicine*, 379(21), 2085-2086.
11. Buxbaum, J. N. (2019). Treatment of hereditary and acquired forms of transthyretin amyloidosis in the era of personalized medicine: the role of randomized controlled trials. *Amyloid*, 26(2), 55-65.
12. Coelho, T., Adams, D., Silva, A., Lozeron, P., Hawkins, P. N., Mant, T., Perez, J., Chiesa, J., Warrington, S., Tranter, E., Munisamy, M., Falzone, R., Harrop, J., Cehelsky, J., Bettencourt, B. R., Geissler, M., Butler, J. S., Sehgal, A., Meyers, R. E., Chen, Q., ... Suhr, O. B. (2013). Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *The New England journal of medicine*, 369(9), 819–829.
13. Conceição, I., Coelho, T., Rapezzi, C., Parman, Y., Obici, L., Galán, L., & Rousseau, A. (2019). Assessment of patients with hereditary transthyretin amyloidosis - understanding the impact of management and disease progression. *Amyloid : the international journal of experimental and clinical investigation : the official journal of the International Society of Amyloidosis*, 26(3)
14. Emdin, M., Aimo, A., Rapezzi, C., Fontana, M., Perfetto, F., Seferović, P. M., ... & Passino, C. (2019). Treatment of cardiac transthyretin amyloidosis: an update. *European Heart Journal*, 40(45), 3699-3706.
15. Finsterer, J., Iglseder, S., Wanschitz, J., Topakian, R., Löscher, W. N., & Grisold, W. (2019). Hereditary transthyretin-related amyloidosis. *Acta neurologica Scandinavica*, 139(2), 92–105.
16. Gales, L. (2019). Tegsedi (inotersen): an antisense oligonucleotide approved for the treatment of adult patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *Pharmaceuticals*, 12(2), 78.
17. Gertz M. A. (2017). Hereditary ATTR amyloidosis: burden of illness and diagnostic challenges. *The American journal of managed care*, 23(7 Suppl), S107–S112.
18. Gertz, M. A., Scheinberg, M., Waddington-Cruz, M., Heitner, S. B., Karam, C., Drachman, B., Khella, S., Whelan, C., & Obici, L. (2019). Inotersen for the treatment of adults with polyneuropathy caused by hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Expert review of clinical pharmacology*, 12(8), 701–711.

19. Gillmore, J. D., Maurer, M. S., Falk, R. H., Merlini, G., Damy, T., Dispenzieri, A., Wechalekar, A. D., Berk, J. L., Quarta, C. C., Grogan, M., Lachmann, H. J., Bokhari, S., Castano, A., Dorbala, S., Johnson, G. B., Glaudemans, A. W., Rezk, T., Fontana, M., Palladini, G., Milani, P., ... Hawkins, P. N. (2016). Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. *Circulation*, *133*(24), 2404–2412.
20. Kapoor, M., Rossor, A. M., Laura, M., & Reilly, M. M. (2019). Clinical presentation, diagnosis and treatment of TTR amyloidosis. *Journal of Neuromuscular Diseases*, *6*(2), 189-199.
21. Kristen, A. V., Ajroud-Driss, S., Conceição, I., Gorevic, P., Kyriakides, T., & Obici, L. (2019). Patisiran, an RNAi therapeutic for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Neurodegenerative disease management*, *9*(1), 5-23.
22. Macedo, A. V. S., Schwartzmann, P. V., de Gusmão, B. M., de Melo, M. D. T., & Coelho-Filho, O. R. (2020). Advances in the Treatment of Cardiac Amyloidosis. *Current Treatment Options in Oncology*, *21*(5).
23. Mankad, A. K., & Shah, K. B. (2017). Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *Current cardiology reports*, *19*(10), 97.
24. Mathew, V., & Wang, A. K. (2019). Inotersen: new promise for the treatment of hereditary transthyretin amyloidosis. *Drug design, development and therapy*, *13*, 1515.
25. Mathew, V., & Wang, A. K. (2019). Inotersen: new promise for the treatment of hereditary transthyretin amyloidosis. *Drug design, development and therapy*, *13*, 1515–1525.
26. Mickle, K., Lasser, K. E., Hoch, J. S., Cipriano, L. E., Dreitlein, W. B., & Pearson, S. D. (2019). The effectiveness and value of patisiran and inotersen for hereditary transthyretin amyloidosis: a summary from the institute for clinical and economic review’s midwest comparative effectiveness public advisory council. *Journal of managed care & specialty pharmacy*, *25*(1), 10-15.
27. Mickle, K., Lasser, K. E., Hoch, J. S., Cipriano, L. E., Dreitlein, W. B., & Pearson, S. D. (2019). The Effectiveness and Value of Patisiran and Inotersen for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *Journal of managed care & specialty pharmacy*, *25*(1), 10–15.

28. Ruberg, F. L., Grogan, M., Hanna, M., Kelly, J. W., & Maurer, M. S. (2019). Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*, 73(22), 2872–2891.
29. Sekijima Y. (2015). Transthyretin (ATTR) amyloidosis: clinical spectrum, molecular pathogenesis and disease-modifying treatments. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 86(9), 1036–1043.
30. Vita, G., Vita, G. L., Stancanelli, C., Gentile, L., Russo, M., & Mazzeo, A. (2019). Genetic neuromuscular disorders: living the era of a therapeutic revolution. Part 1: peripheral neuropathies. *Neurological Sciences*, 40(4), 661-669.
31. Waddington-Cruz, M., Ackermann, E. J., Polydefkis, M., Heitner, S. B., Dyck, P. J., Barroso, F. A., Wang, A. K., Berk, J. L., Dyck, P., Monia, B. P., Hughes, S. G., Tai, L., Jesse Kwoh, T., Jung, S. W., Coelho, T., Benson, M. D., & Gertz, M. A. (2018). Hereditary transthyretin amyloidosis: baseline characteristics of patients in the NEURO-TTR trial. *Amyloid : the international journal of experimental and clinical investigation : the official journal of the International Society of Amyloidosis*, 25(3), 180–188.
32. Yang J. (2019). Patisiran for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Expert review of clinical pharmacology*, 12(2), 95–99. <https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1567326>
33. Yang, J. (2019). Patisiran for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 12(2), 95-99.
34. Zhang, X., Goel, V., & Robbie, G. J. (2020). Pharmacokinetics of Patisiran, the First Approved RNA Interference Therapy in Patients With Hereditary Transthyretin-Mediated Amyloidosis. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 60(5), 573-585.

