



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA” din BUCUREȘTI



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
”CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINĂ

Tipizarea moleculară a fibrilelor de amiloid:

*Modelul de depozitare tisulară și heterogenitatea manifestărilor clinice
în amiloidozele sistemice*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator de doctorat:

PROF. UNIV. DR. CORIU DANIEL

Student-doctorand:

JERCAN ANDREEA

2023

Cuprinsul tezei

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI

INTRODUCERE

I.	PARTEA GENERALĂ	1
	Capitolul 1. Tipizarea amiloidului.....	1
	Capitolul 2. Clasificarea amiloidozelor și descrierea celor mai frecvente forme de amiloidoză sistemică.....	4
	2.1 Amiloidoza tip lanț ușor (AL).....	4
	2.1.1. Diagnosticul AL	4
	2.1.2. Stadializarea amiloidozei AL și prognostic	16
	2.1.3. Tratamentul amiloidozei AL	17
	2.2. Amiloidoza familială tip transtiretină (ATTRh).....	18
	2.2.1. Genotipul ATTRh.....	19
	2.2.2. Fenotipul ATTRh.....	20
	2.2.3. Diagnosticul și managementul ATTRh.....	22
	2.3. Amiloidoza tip transtiretină wild-type (ATTRwt).....	22
	2.4. Amiloidoza familială tip lizozim (ALys)	23
	2.5. Amiloidoza secundară (AA).....	24
II.	PARTEA ORIGINALĂ	26
	Capitolul 3. Analiza tipizării amiloidozei	26
	3.1. Obiective.....	26
	3.2. Materiale și metode.....	26
	3.2.1. Tipul studiului.....	26

3.2.2.	Pacienți.....	26
3.2.3.	Perioada de observație.....	27
3.2.4.	Parametrii investigați.....	27
3.2.5.	Tehnici de tipizare.....	27
3.2.6.	Analiza statistică.....	29
3.3.	Rezultate.....	29
3.3.1.	Tipurile de amiloidoză identificate.....	29
3.3.2.	Biopsiile efectuate.....	30
3.3.3.	Colorația Roșu de Congo.....	35
3.3.4.	Tipizarea amiloidului.....	37
3.4.	Discuții și limitări ale studiului.....	39
3.5.	Concluzii.....	40
Capitolul 4. Analiza diferențelor dintre amiloidoze în funcție de intervalul de diagnostic.....		41
4.1.	Obiective.....	41
4.2.	Materiale și metode.....	41
4.2.1.	Tipul studiului.....	41
4.2.2.	Pacienți.....	41
4.2.3.	Perioada de observație.....	41
4.2.4.	Parametrii investigați.....	42
4.2.5.	Analiza statistică.....	42
4.3.	Rezultate și discuții.....	42
4.3.1.	Incidența cazurilor de amiloidoză în funcție de perioada de diagnostic.....	42

4.3.2.	Diferențele de vârstă în funcție de perioada de diagnostic.....	45
4.3.3.	Diferențele de durată debut-diagnostic în funcție de perioada de diagnostic.....	46
4.4.	Concluzii.....	50
Capitolul 5. Caracterizarea tipurilor de amiloidoză identificate.....		51
5.1.	Amiloidoza tip lanț ușor (AL).....	51
5.1.1.	Obiective.....	51
5.1.2.	Materiale și metode.....	51
5.1.3.	Caracteristici generale al pacienților diagnosticați cu AL.....	53
5.1.4.	Predominanța de organ la pacienții cu amiloidoză AL.....	56
5.1.5.	Anomaliile citogenetice identificate la pacienții AL.....	73
5.1.6.	Supraviețuirea pacienților cu AL.....	77
5.2.	Amiloidoza familială tip transtiretină.....	90
5.2.1.	Obiective.....	90
5.2.2.	Materiale și metode.....	90
5.2.3.	Rezultate.....	91
5.2.4.	Discuții.....	99
5.2.5.	Concluzii.....	101
5.3.	Amiloidoza familială tip lizozim.....	101
5.3.1.	Obiective.....	101
5.3.2.	Materiale și metode.....	102
5.3.3.	Rezultate.....	102
5.3.4.	Discuții.....	105
5.3.5.	Concluzii.....	106

5.4. Alte tipuri de amiloidoză.....	107
5.4.2. Amiloidoza secundară (AA).....	107
5.4.3. Amiloidoza tip transtiretină wild-type (ATTRwt).....	113
Capitolul 6. Concluzii.....	118
Capitolul 7. Contribuții personale	121
BIBLIOGRAFIE	122
ANEXE	144

INTRODUCERE

Amiloidoza reprezintă un grup de boli caracterizate prin depunerea de fibrile de amiloid la nivelul țesuturilor, ceea ce determină disfuncția organelor afectate. Amiloidul este evidențiat histologic prin colorația Roșu de Congo, fiind congofil și cu birefrință verzuie ("măr verde") în lumină polarizată [1]. Amiloidul este alcătuit din diferite proteine ce determină numeroase forme de amiloidoză. Au fost identificate 40 de proteine amiloidogene ce determină amiloidoză sistemică sau localizată [2]. Diferențierea între formele de amiloidoză are la bază tipizarea, care identifică tipul de proteină din compoziția amiloidului. Cele mai frecvente forme de amiloidoză sunt amiloidoza tip lanț ușor (AL), amiloidoza tip transtiretină (wild-type și ereditară) și amiloidoza secundară (AA) [3-4].

Diagnosticul amiloidozei este unul laborios, care necesită suspiciune clinică, identificarea depozitelor de amiloid și tipizarea amiloidului. Amiloidoza este o boală sistemică ce poate afecta orice organ, iar prezentarea clinică este variabilă. Pacienții sunt adesea consultați de mai mulți specialiști, primesc diagnostice greșite și prezintă o întârziere a diagnosticului de mai multe luni sau chiar ani. Nu de puține ori, sunt necesare multiple biopsii pentru stabilirea unui diagnostic de certitudine.

Heterogenitatea prezentărilor clinice și procesul laborios de diagnostic fac ca această patologie să fie subdiagnosticată la nivel global. Prognosticul pacienților cu amiloidoză este determinat de diagnosticul precoce, înaintea instalării insuficiențelor ireversibile de organ prin acumularea fibrilelor de amiloid.

Prezenta lucrare are ca teme de cercetare analiza metodelor de tipizare ale amiloidului, analiza îmbunătățirii diagnosticului amiloidozei și analiza caracteristicilor tipurilor de amiloidoză identificate la pacienții diagnosticați în decurs de 20 de ani (2001-2020) în Centrul de Hematologie și Transplant Medular din Institutul Clinic Fundeni.

Având în vedere că amiloidoza este o boală rară și polimorfă prin diversitatea formelor și a prezentărilor clinice, nu există date legate de incidența, modul de diagnostic sau caracteristicile pacienților cu amiloidoză în România. Această lucrare are rolul să descrie aceste caracteristici prin analiza retrospectivă a datelor unui centru de referință în diagnosticul și tratamentul amiloidozei.

I. PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Tipizarea amiloidului

Tipizarea amiloidului reprezintă identificarea proteinei implicate în formarea fibrilelor de amiloid (fibrilogeneza). [5]. În ciuda faptului că există diferite proteine implicate în fibrilogeneza, acestea generează fibrile de amiloid ce nu se pot diferenția morfologic [6]. Astfel, colorația Roșu de Congo poate identifica depozitele de amiloid, însă nu poate face diferența între tipurile de amiloid.

Diferențierea între tipurile de amiloid se face prin metode imunohistochimice, de imunofluorescență, prin microscopie electronica Imunoglod, testare genetică sau proteomică [7]. Metodele de tipizare se împart în metode pe bază de anticorpi (imunohistochimie, imunofluorescența și imunomicroscopia electronică) și metode independente de anticorpi (testarea genetică și proteomica) [8].

Imunofluorescența și *imunohistochimie* sunt limitate de disponibilitatea anticorpilor, în special pentru formele mai rare de amiloidoză. O altă problemă este sensibilitatea și specificitatea anticorpilor, deoarece precursorii amiloidului prezintă adesea mutații genetice și modificări conformaționale, iar anticorpii împotriva formei sălbatice a proteinei pot fi mai puțin reactivi la forma mutantă [7].

Testarea genetică este utilizată în cazul formelor de amiloidoză ereditară. Au fost identificate mutații asociate cu amiloidoză în numeroase proteine (ATTR, AApoAI, AApoAII, ALys, AFib, AGel). Testarea genetică este în mod special importantă în ATTR, unde diferențiază între două forme distincte de amiloidoză: forma familială (proteina TTR mutantă) și forma non-mutantă (proteina TTR sălbatică) [7].

Proteomica se ocupă de întregul component de proteine existente în organism sau mediu (proteom). Prin urmare, este eliminată necesitatea de teste speciale pentru o anumită proteină, astfel fiind evitată dependența de anticorpii specifici fiecărei proteine sau dependența de identificarea unei anumite mutații [7].

Capitolul 2. Clasificarea amiloidozelor și descrierea celor mai frecvente forme de amiloidoză sistemică

În ultimii 27 de ani, numărul proteinelor amiloidogene a crescut de la 15 la 40 de proteine [2,9]. Cele mai frecvente sunt amiloidoza tip lanț ușor, amiloidoza tip transtiretină (wild-type și ereditară) și amiloidoza secundară [3-4].

2.1 Amiloidoza tip lanț ușor (AL)

Amiloidoza tip lanț ușor (AL) este o boală hematologică malignă rară ce are ca precursor proteic lanțurile ușoare ale imunoglobulinelor, sintetizate de plasmocitele clonale medulare [10]. Incidența AL este de aproximativ 1,2 la 100.000 de locuitori pe an [11]. Apare la pacienți cu vârstă mediană de 64 ani, cu ușoară predominanță masculină (54%) [12]. Diagnosticul este adesea întârziat de prezentarea clinică nespecifică, uneori cu o întârziere de peste un an [13].

Diagnosticul AL presupune îndeplinirea a 4 criterii stabilite de IMWG: (1) prezența unui sindrom clinic legat de amiloidoză; (2) confirmarea histopatologică a prezenței depozitelor de amiloid prin colorația Roșu de Congo; (3) dovada că depozitele de amiloid sunt formate din lanțuri ușoare ale imunoglobulinelor și (4) dovada proliferării plasmocitare [14].

Sindromul clinic legat de amiloidoză este variabil în funcție de organul afectat. Amiloidul se poate depune practic în orice țesut, însă există o afinitate crescută pentru anumite organe (cord – 70-80%, rinichi – 50-70%, sistemul nervos – 20-25%, ficat – 15-20% și tub digestiv – 5-15%) [10].

Afectarea cardiacă presupune îndeplinirea criteriului ecografic (sept interventricular >12 mm, fără altă cauză de hipertrofie) sau a criteriului biologic (NT-proBNP >332 ng/L, în absența insuficienței renale sau a fibrilației atriale) [15-16]. Aproximativ 30-50% dintre pacienții nou diagnosticați cu amiloidoză AL prezintă afectare cardiacă [17]. Progresul imagisticii cardiace a determinat o mai bună caracterizare a afectării cardiace, utilizând strain-ul longitudinal global (GLS) cu aspect tipic de "cruțare apicală" la ecocardiografie și evidențierea captării tardive a gadoliniumului la RMN-ul cardiac [18]. Biomarkerii cardiaci (NT-proBNP și troponina) cresc în afectarea cardiacă din AL și au fost incluși în stadializările cardiace, având rol prognostic [19-20].

Afectarea renală este definită prin proteinurie/24h > 0,5 g, cu predominanța albuminuriei [15]. Afectarea renală unică se asociază cu prognostic mai favorabil, iar ținta este evitarea insuficienței renale finale cu necesar de dializă [21].

Afectarea sistemului nervos periferic este definită prin identificarea polineuropatiei axonale senzitivo-motorii simetrice la membrele inferioare [15] și implică predominant fibrele nervoase mici, nemielinizate și determină disestezie, parestezie și pierdere progresivă a sensibilității..

Afectarea autonomă (sistem nervos vegetativ) este definită de disfuncția autonomă, de la hipotensiunea ortostatică asimptomatică până la hipotensiune severă, disfuncție intestinală și a vezicii urinare. Totuși, hipotensiunea ortostatică (TA sistolică \leq 90 mmHg) nu este cauzată numai de disfuncția autonomă, fiind întâlnită și la pacienții cu debit cardiac scăzut sau hipoalbuminemie, care prezintă scăderea volumului plasmatic [15]. Principalul diagnostic diferențial în cazul afectării nervoase periferice și autonome se face cu diabetul zaharat complicat [22].

Afectarea hepatică este definită prin hepatomegalie (>15cm), în absența insuficienței cardiace sau creșterea nivelului fosfatazei alcaline peste 1,5 x valoarea superioară a normalului [15]. Asocierea hiperbilirubinemiei este factor de prognostic nefavorabil, cu evoluția rapidă la insuficiență hepatică [23].

Afectarea gastrointestinală este definită prin depistarea prezenței depozitelor de amiloid la nivelul tubului digestiv, la pacientul cu manifestări clinice gastrointestinale [15]. Principalele manifestări includ disfagie, scădere ponderală, greață, vărsături, dureri abdominale, simptome legate de malabsorbție (diaree, steatoree, anorexie), sângerare (hematemeză, hematochezie, melenă, până la sângerări masive ce pot fi fatale) [24-27].

Afectarea de părți moi este definită de o serie de prezentări ale infiltrării amiloide, incluzând macroglosia, afectarea cutanată, sindromul de canal carpian, miopatia, claudicația, artropatia și adenopatiile [15].

Afectarea respiratorie este definită prin prezența simptomelor respiratorii sau a pattern-ului imagistic interstițial cu dovada directă a depozitelor de amiloid la nivel pulmonar [15]. Diagnosticul de amiloidoză sistemică cu afectare pulmonară este rar, însă este raportat că prezența amiloidului la nivel interstițial este frecventă, însă asimptomatică [28].

2.2. Amiloidoza familială tip transtiretină (ATTRh)

ATTRh este o boală ereditară autozomal dominantă determinată de mutații punctiforme în gena transtiretinei. Este o boală rară, cu o prevalență globală de 5.000-10.000 de cazuri, cu o frecvență mai mare în anumite zone "endemice" – Portugalia, Suedia și Japonia [29]. Au fost identificate peste 130 mutații TTR, fiecare determinând un fenotip specific al bolii [30]. Fenotipul ATTRh poate fi clasificat în neurologic (ex. Val30Met), cardiologic (ex. Val122Ile) sau mixt [31]. Cea mai frecventă mutație este Val30Met, identificată predominant în zonele endemice [32]. În România, cea mai frecventă mutație identificată este Glu54Gln, aceasta prezentând fenotip mixt. Primul caz de ATTRh Glu54Gln a fost descris în 2012 [33].

2.3. Amiloidoza tip transtiretină wild-type (ATTRwt)

ATTRwt este determinată de depunerea de fibrile de amiloid alcătuite din transtiretină sălbatică, non-mutantă. Este o patologie a vârstnicului (medie 78,6 ani), cu predominanță masculină [34]. Prevalența acestei boli a crescut semnificativ în ultimii ani, fiind estimat că 1,1% dintre pacienții cu insuficiență cardiacă au ATTRwt [35].

2.4. Amiloidoza familială tip lizozim (ALys)

ALys este o boală rară, autozomal dominantă, determinată de mutații punctiforme la nivelul genei lizozimului [36]. Prevalența bolii este necunoscută, vârsta de debut și fenotipul sunt variabile, chiar în cazul aceleiași mutații sau a aceleiași familii [37]. Supraviețuirea este îndelungată, comparativ cu celelalte tipuri de amiloidoză (mediană de 17,9 ani), chiar în absența tratamentului etiologic [38-39]. Primul caz din România a fost descris în 2006 [40], fiind identificată o mutație distinctă față de cele deja cunoscute la acel moment (Asp67Gly).

2.5. Amiloidoza secundară (AA)

Amiloidoza secundară este o complicație rară a bolilor inflamatorii cronice, fibrilele de amiloid fiind alcătuite din proteina serică A (SAP), o proteină de fază acută sintetizată de ficat [41]. Sunt descrise numeroase patologii asociate cu inflamație persistentă [42]. Prevalența AA a scăzut în ultimii ani, prin apariția tratamentelor antibiotice și antiinflamatorii eficiente [43].

II. PARTEA ORIGINALĂ

Capitolul 3. Analiza tipizării amiloidozei

Tipizarea amiloidului este esențială pentru identificarea tipului de proteină implicată, clasificarea amiloidozei, prognostic și abordare terapeutică.

Obiectivul acestui studiu a fost identificarea metodelor de tipizare ale amiloidului și implementarea în practica de rutină a acestor metode. Au fost incluși în studiu pacienții diagnosticați cu amiloidoză sistemică în cursul a 20 de ani (2001-2020) în Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni.

Au fost identificați 251 pacienți cu amiloidoză, dintre care 190 pacienți cu AL, 44 pacienți cu ATTRh, 8 pacienți cu AA, 5 pacienți cu ALys și 4 pacienți cu ATTRwt (Fig. 1.).

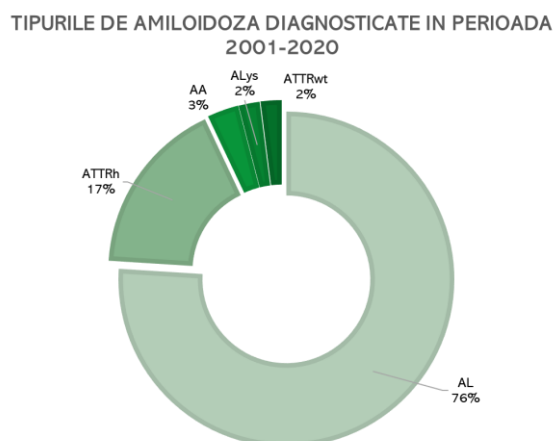


Fig.1. Repartiția pacienților cu amiloidoză incluși în studiu în funcție de tipul de amiloidoză (AL, ATTRh, AA, ALys și ATTRwt)

În vederea identificării depozitelor de amiloid, 89,6% dintre pacienți au efectuat biopsii. În funcție de localizare, biopsiile au fost împărțite în biopsii minim invazive (biopsie de grăsime abdominală și biopsie de glande salivare), biopsii de organ și biopsie osteomedulară. Biopsiile minim invazive au fost cele mai frecvente, reprezentând 50% din totalul biopsiilor efectuate. Dintre biopsiile de organ, biopsia renală a fost cea mai frecventă (55,3% din biopsiile de organ).

Colorația Roșu de Congo a fost utilizată pentru evidențierea depozitelor de amiloid. Cea mai mare rată de pozitivitate a colorației Roșu de Congo a fost înregistrată la biopsia renală (94%), urmată de biopsia de grăsime abdominală (88,2%) și biopsia de glande salivare (80%).

Tipizarea amiloidului a fost efectuată la 56,6% dintre pacienții diagnosticați cu amiloidoză. Metodele de tipizare utilizate au fost imunofluorescența (46%), secvențierea ADN (31%), imunohistochimia (11%), PCR-RFLP pentru TTR Glu54Gln (10%) și secvențierea proteinelor/spectrometrie de masă (2%) (Fig.2.).

Rezultatele tipizării au arătat predominanța lanțului ușor lambda (60 cazuri) și a mutației TTR Glu54Gln (36 pacienți).

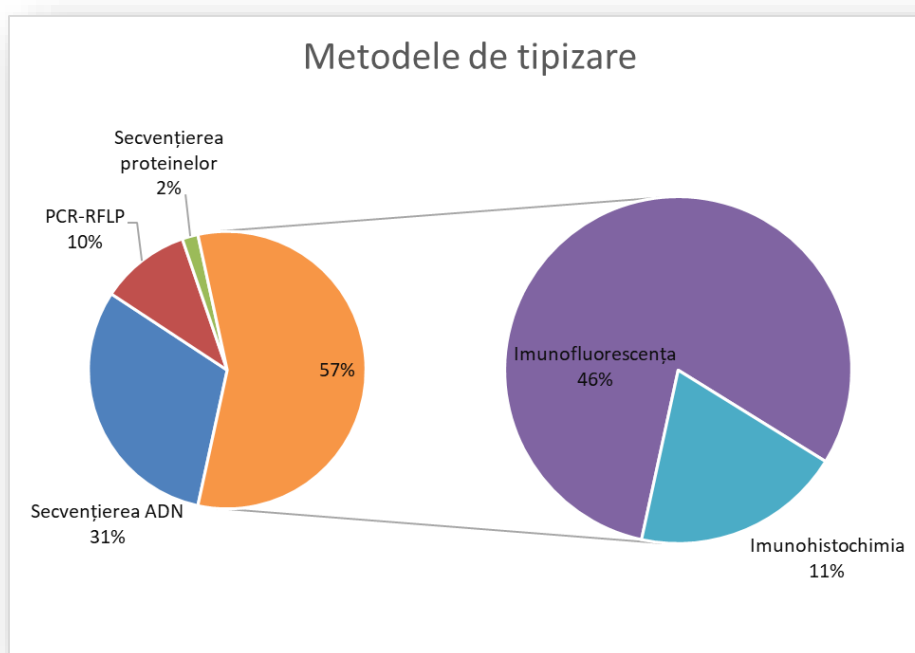


Fig.2. Repartiția pacienților cu amiloidoză în funcție de metoda de tipizare utilizată

Capitolul 4. Analiza diferențelor dintre amiloidoze în funcție de intervalul de diagnostic

Incidența amiloidozei a crescut în ultimii ani datorită unei mai bune cunoașteri a acestei patologii și a îmbunătățirii metodelor diagnostice [3].

Prezentul studiu are ca obiective (1) identificarea incidenței cazurilor de amiloidoză în funcție de intervalul de diagnostic, (2) identificarea diferențelor de vârstă în funcție de perioada de diagnostic și (3) stabilirea diferențelor de durată debut-diagnostic în funcție de perioada de diagnostic.

Pentru compararea perioadelor, cei 20 de ani au fost împărțiți în **4 intervale**: 2001-2005, 2006-2010, 2011-2015 și 2016-2020.

S-a observat creșterea numărului de pacienți diagnosticați, consecutiv pentru fiecare perioadă. Peste jumătate (59,4%) dintre pacienții cu amiloidoză au fost diagnosticați în ultimii 5 ani (2016-2020) (Fig.3.).

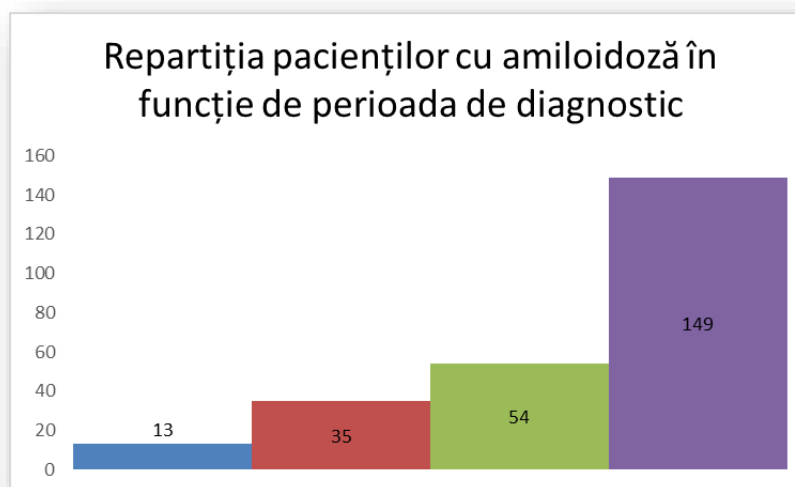


Fig. 3. Repartiția pacienților cu amiloidoză în funcție de perioada de diagnostic

S-a înregistrat o creștere semnificativă statistic a numărului de amiloidoze non-AL începând cu anul 2016. Dintre amiloidozele non-AL, ATTRh a prezentat cea mai mare creștere (de la 1,2% la 15,7%). De asemenea, se observă o scădere a **vârstei medii la diagnostic** cu 3,9 ani, fapt explicat prin creșterea incidenței amiloidozelor non-AL (Fig. 4.).

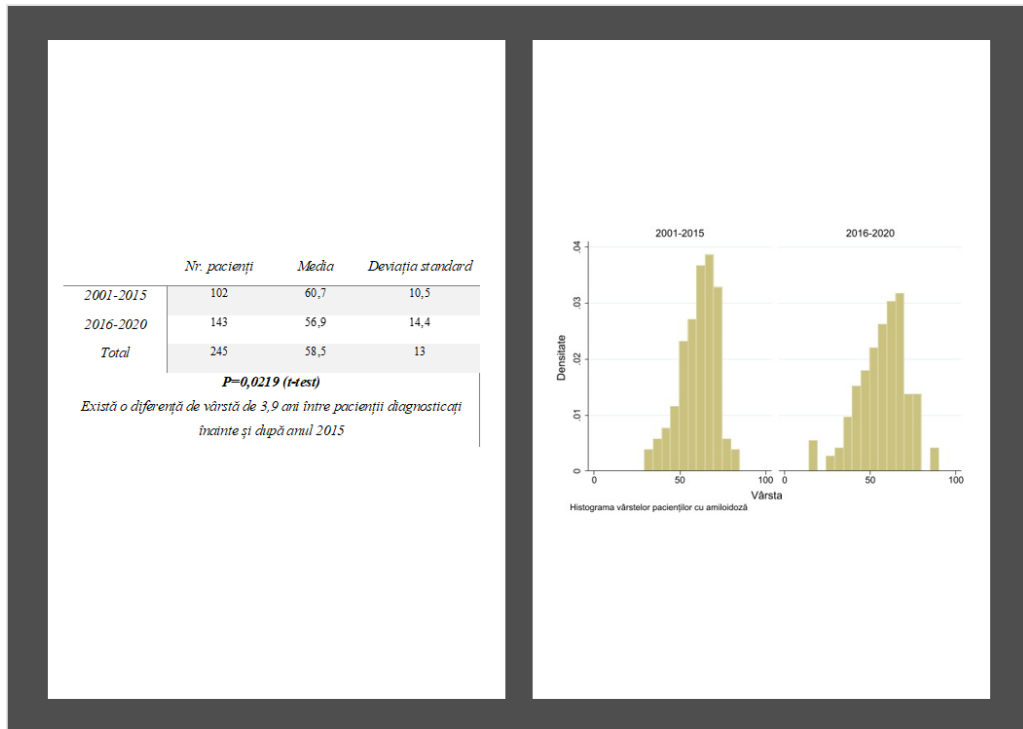


Fig. 4. Histogramele vârstelor și diferența între vârstele medii ale pacienților cu amiloidoză diagnosticați în perioadele 2001-2015 și 2016-2020

Nu s-a înregistrat o diferență semnificativă statistic a **duratei debut diagnostic** la pacienții diagnosticați înainte și după 2016. În schimb, se observă că durata debut-diagnostic este cu 35,9 luni mai mare la pacienții non-AL comparativ cu AL, indiferent de perioada de diagnostic.

Capitolul 5. Caracterizarea tipurilor de amiloidoză identificate

5.1. Amiloidoza tip lanț ușor (AL)

Amiloidoza tip lanț ușor este cea mai frecventă formă de amiloidoză. Este o boală sistemică ce poate afecta orice organ, prezentarea clinică fiind polimorfă. Prognosticul este cel mai nefavorabil dintre amiloidozele sistemice. Supraviețuirea mediană este de 4 luni în cazul afectării cardiace avansate, însă evoluția terapiei specifice a adus o îmbunătățire a supraviețuirii de la 13 luni la 4,6 ani după anul 2010 [44].

Obiectivele studiului au fost (1) evaluarea caracteristicilor generale ale pacienților cu AL, (2) evaluarea afectării predominante de organ la pacienții cu AL, (3) evaluarea factorilor de risc citogenetici la pacienții cu AL și (4) evaluarea supraviețuirii pacienților cu AL.

Analiza datelor în prezentul studiu a fost realizată prin intermediul programului STATA BE 17. Pentru analiza semnificației statistice au fost utilizate testul t-student pentru variabilele continue și testul χ^2 pentru variabilele discrete. Cu ajutorul curbelor Kaplan-Meier a fost calculată supraviețuirea mediană, iar pentru stabilirea semnificației statistice între curbele de supraviețuire, a fost utilizat testul log-rank.

În studiu au fost incluși 190 pacienți AL, cu vârsta mediană 62 ani și ușoară predominanță masculină (52,6%). Majoritatea pacienților au avut domiciliul în București, însă se observă că pacienții provin din 34 de județe diferite (Fig.5.).



Fig.5. Harta distribuției domiciliului pacienților cu AL incluși în studiu

Cele mai frecvente (>30%) simptome de debut au fost edemele, paresteziile, sindromul sicca, scăderea ponderală și astenia fizică. Lanțul lambda a fost proteina

amiloidogenă în 72% din cazuri, imunofixarea proteinelor serice a fost pozitivă în 77,4% din cazuri, dFLC mediană a fost 153 mg/l, iar mediana infiltrării plasmocitare a fost de 10%. Frecvențele afectărilor de organ au fost: rinichiul (67,9%), cordul (59,5%), SNP (53,2%), SNV (39,5%), părți moi (39,5%), ficat (25,3%), tub digestiv (9%) și plămân (3,7%).

Având în vedere diversitatea manifestărilor clinice la diagnostic în funcție de organele implicate și pornind de la datele din literatură, am definit afectarea predominantă de organ cu scopul identificării caracteristicilor clinice sugestive. Definiția predominanței de organ a fost impactul major al afectării organului respectiv în cardul AL, criteriile de diagnostic fiind anexate în lucrare.

Repartiția predominanțelor de organ au fost: rinichi (40%), cord (36%), ficat (7,9%), sistem nervos (6,8%), părți moi (4,7%), tub digestiv (2,6%) și plămân (1,6%) (Fig.6).

Frecvența predominanțelor de organ

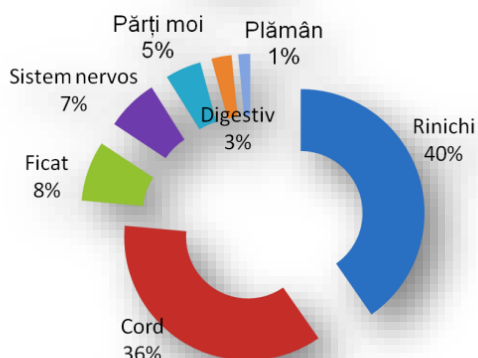


Fig.6. Repartiția pacienților cu AL în funcție de organul predominant afectat

Afectarea predominantă renală a fost caracterizată de debut semnificativ statistic mai frecvent cu edeme și mai rar dispnee și tuse.

Pacienții cu **afectare predominantă cardiacă** au prezentat în proporție mai mare lanț ușor lambda (80,9% vs. 67,5%). Simptomele de debut înregistrate semnificativ statistic mai frecvent la acest grup au fost dispneea, sindromul sicca, sincopa și tusea.

Afectarea predominantă SNP a fost asociată semnificativ statistic mai frecvent cu debut prin parestezii.

Pacienții cu **afectare de părți moi** au prezentat un grad al infiltrării plasmocitare semnificativ statistic mai mare (26% vs. 13,4%) și o durată medie debut-diagnostic mai mare (25 luni vs. 12 luni). Afectarea cutanată și macroglosia au fost cele mai întâlnite forme de afectare de părți moi.

Afectarea predominantă hepatică a debutat semnificativ statistic mai frecvent cu meteorism abdominal și astenie fizică și mai rar cu edeme și sindrom sicca. Valoarea mediană a rigidității hepatice a fost semnificativ statistic mai mare la pacienții cu predominanță hepatică (49,6 KPa vs. 20,6 KPa). Factorul X al coagulării a avut un nivel mediu semnificativ mai mic (50% vs. 73,5%).

Afectările SNP, digestivă și pulmonară au fost prezente la un număr prea mic de pacienți pentru a se putea efectua analiză statistică.

Anomaliile citogenetice au fost evaluate la 25 pacienți și au fost prezente în 32% dintre cazuri. Au fost identificate del17p, t(14;16), t(4;14) și hiperdiploidia în 7, 3, 2 și respectiv 1 caz. Pacienții cu del17p au prezentat semnificativ statistic mai frecvent afectare digestivă.

Rata de deces a pacienților cu AL a fost de 65,8%, iar **supraviețuirea mediană** a fost 19 luni (Fig.7.). Supraviețuirea a fost mai redusă la pacienții cu lanț greu monoclonal absent, la pacienții care au debutat cu astenie fizică, scădere ponderală, inapetență sau tuse, care au prezentat afectare cardiacă, afectare SNV, predominanță cardiacă și predominanță hepatică. În schimb, pacienții cu afectare predominantă renală au prezentat o supraviețuire mai mare. De asemenea, prezența depozitelor de amiloid a fost asociată cu o supraviețuire mai redusă. Pacienții care au primit tratament au avut o supraviețuire mai mare, iar dintre tratamentele efectuate, expunerea la inhibitori de proteazomi, imunomodulatori și autotransplantul medular au fost asociate cu o supraviețuire mai mare.

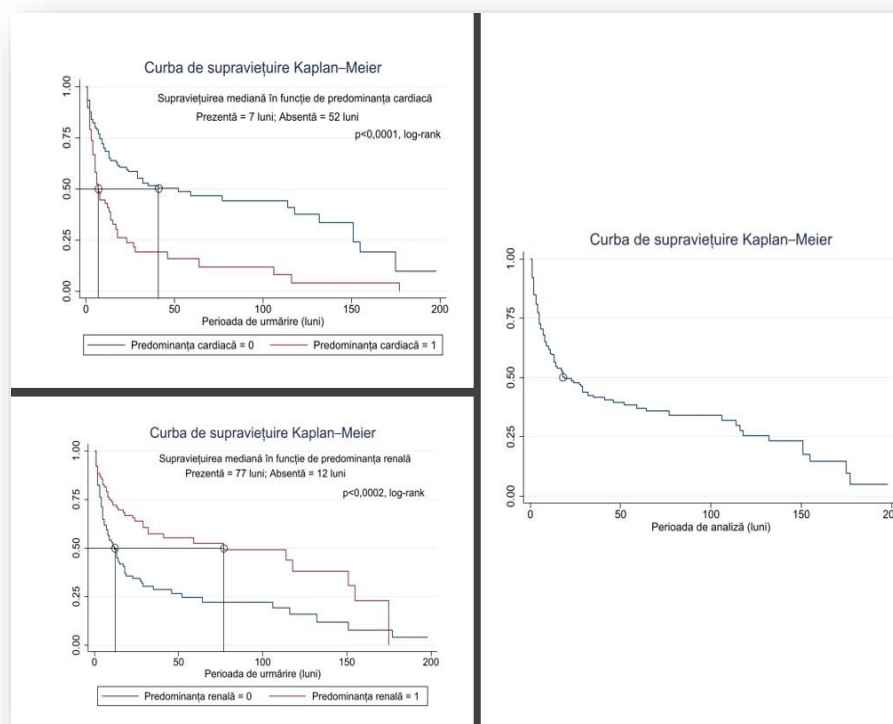


Fig.7. Curbele de supraviețuire în funcție de prezența afectării predominante cardiace și renale, comparativ cu supraviețuirea globală

5.2. Amiloidoza familială tip transtiretină (ATTRh)

ATTRh este o boală genetică rară, cu fenotip variabil în funcție de tipul mutației. Obiectivele acestui studiu au fost identificarea mutațiilor prezente în România și caracterizarea fenotipului determinat de mutația Glu54Gln.

Au fost incluși în studiu 44 pacienți cu ATTRh diagnosticați în decurs de 20 ani (2001-2020) în Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni și în Clinica de Neurologie a Spitalului Universitar de Urgență București.

Au fost identificate 5 mutații TTR: *Glu54Gln*, *Glu89Lys*, *Glu89Val*, *Val30Met* și *Ile107Val*. Majoritatea pacienților (81,8%) au prezentat varianta Glu54Gln.

Se observă o diferență a *originii pacienților* în funcție de genotip. Pacienții cu ATTRh Glu54Gln provin din Nord-Estul României, din județele Suceava, Botoșani și Iași. Pacienții cu ATTRh Val30Met provin din Sud-Vestul României, din județul Dolj, cei cu Ile107Val din Nord-Estul României din județul Neamț, cei cu Glu89Lys din Nord-Vestul

României din județul Maramureș, iar cei cu Glu89Val din Nord-Vestul României, din județul Cluj (Fig.8 și Fig. 9.).



Fig. 8. Distribuția geografică la nivelul României a pacienților cu ATTRh în funcție de tipul mutației



Fig.9. Distribuția geografică la nivelul județelor Suceava, Botoșani și Iași a originii pacienților cu ATTRh Glu54Gln

Prevalența ATTRh în anul 2020 era de 1,81 la milionul de locuitori în România, 3,93 la 100.000 locuitori în județul Suceava și 2,04 la mia de locuitori în localitatea Todirești.

Fenotipul ATTRh Glu54Gln este mixt, cu debut precoce (medie 43,2 ani la debut) și afectare cardiacă (100%), SNP (95,2%), SNV (81%) și oftalmologică (23%). Supraviețuirea mediană a fost de 60 luni.

5.3. Amiloidoza familială tip lizozim

ALys este o boală genetică rară, cu prevalență necunoscută. Scopul acestui studiu constă în caracterizarea fenotipului și genotipului ALys în România.

Au fost identificați 5 pacienți diagnosticați cu ALys Asp67Gly în Clinica de Hematologie Fundeni în perioada 2001-2020. Toți pacienții provin din aceeași familie (Fig.10.). Vârsta medie la diagnostic a fost de 46,2 ani, cu o durată medie debut-diagnostic de 97,2 luni și un raport M:F de 1,5. Simptomele de debut au fost meteorism abdominal, epistaxis, edeme, astenie, diaree, vasculită, parestezii, prurit și greață. Organele afectate au fost ficatul, splina și părțile moi (toți pacienții), tubul digestiv (4 pacienți), adenopatii

subdiafragmatice (3 pacienți), cordul (2 pacienți), rinichiul (2 pacienți). Sistemul nervos periferic a fost afectat la un pacient, cu rezerva că diagnosticul a fost clinic – prezența paresteziilor.

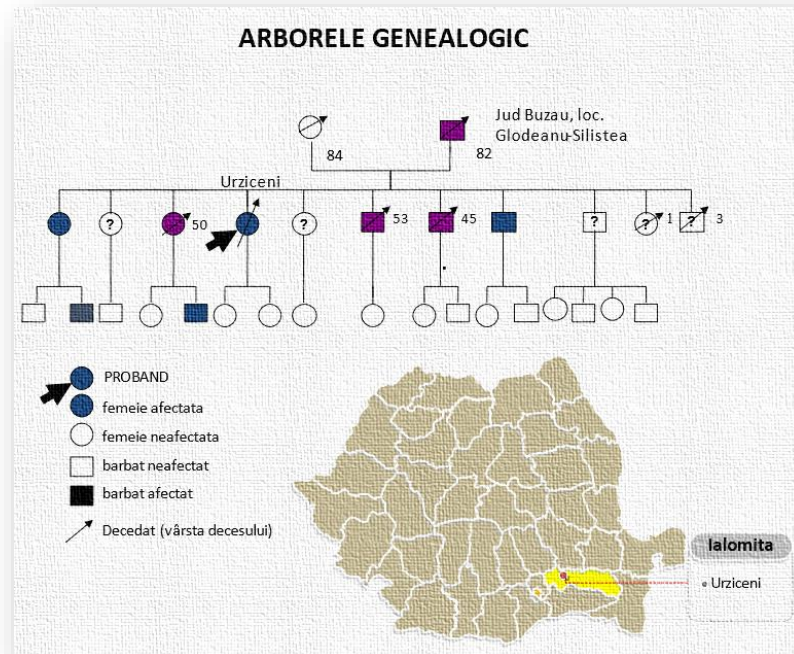


Fig.10. Arborele genealogic al familiei cu amiloidoză familială tip lizozim diagnosticată în România

5.4. Alte tipuri de amiloidoză

5.4.1 Amiloidoza secundară (AA)

Amiloidoza AA este o complicație a bolilor inflamatorii cronice [41]. Obiectivul acestui studiu a fost evaluarea caracteristicilor pacienților cu AA diagnosticați în decurs de 20 ani (2001-2020) în Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni.

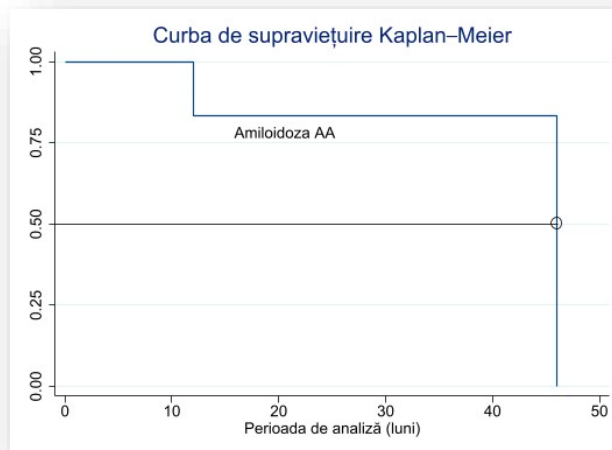
Au fost identificați 8 pacienți cu AA, cu vârsta medie la diagnostic de 47,4 ani, durată medie debut-diagnostic de 85,3 ani și un raport M:F de 0,3. Cele mai frecvente simptome de debut au fost edemele, meteorismul, diareea, artralgiile și paresteziile.

Patologia inflamatorie subiacentă a fost compusă din sindroame febrile familiale (febră mediteraneeană și sindrom Muckle-Wells), poliartrită familială, lupus eritematos

sistemic, spondilită ankilopoietică și imunodeficiență comună variabilă. Cele mai frecvente afectări de organ au fost: renală, digestivă, părți moi și hepatică.

Supraviețuirea mediană a pacienților cu AA a fost de 46 luni (Fig.11.).

Fig.11. Curba de supraviețuire Kaplan-Meier a pacienților cu amiloidoză AA. Supraviețuirea mediană 46 luni

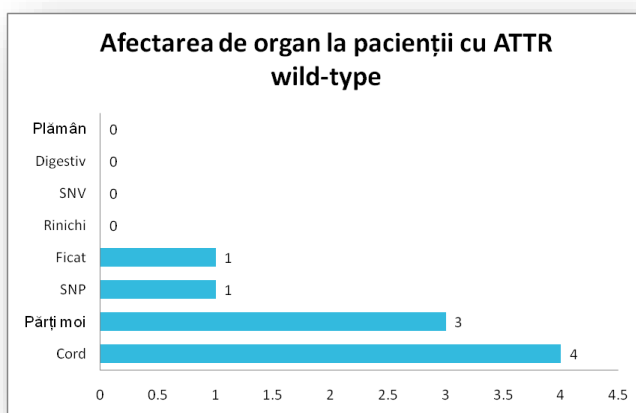


5.4.2. Amiloidoză tip transtiretină wild-type (ATTRwt)

ATTRwt este o patologie a vârstnicului, fiind în trecut denumită amiloidoză senilă. Obiectivul acestui studiu a fost caracterizarea pacienților cu ATTRwt diagnosticați în decurs de 20 ani (2001-2020) în Centrul de Hematologie al Institutului Clinic Fundeni.

Au fost identificați 4 pacienți cu ATTRwt, cu vârsta medie la diagnostic de 80,5 ani, cu durata debut-diagnostic medie de 21,3 luni și un raport M:F de 3. Principalele manifestări de debut au fost edemele și dispneea. Afectarea cardiacă a fost prezentă la toți pacienții, urmată de afectarea de părți moi (2 pacienți), afectarea SNP (1 pacient), afectare hepatică (1 pacient) și afectare splenică (1 pacient) (Fig.12.).

Fig.12. Afectarea de organ la pacienții cu ATTRwt



Capitolul 6. Concluzii

În decurs de 20 ani au fost diagnosticați 251 pacienți cu amiloidoză în Centrul de Hematologie al Institutului Clinic Fundeni. Au fost identificate 5 tipuri de amiloidoză sistemică: AL, ATTRh, ATTRwt, ALys și AA.

În vederea identificării depozitelor de amiloid, 89,6% dintre pacienți au efectuat biopsii. În funcție de localizare, biopsiile au fost împărțite în biopsii minim invazive (biopsie de grăsime abdominală și biopsie de glande salivare), biopsii de organ și biopsie osteomedulară. Biopsiile minim invazive au fost cele mai frecvente, reprezentând 50% din totalul biopsiilor efectuate. Dintre biopsiile de organ, biopsia renală a fost cea mai frecventă (55,3% din biopsiile de organ).

Colorația Roșu de Congo a fost utilizată pentru evidențierea depozitelor de amiloid. Cea mai mare rată de pozitivitate a colorației Roșu de Congo a fost înregistrată la biopsia renală (94%), urmată de biopsia de grăsime abdominală (88,2%) și biopsia de glande salivare (80%).

Tipizarea amiloidului este o etapă importantă în diagnosticul amiloidozei, însă este o metodă laborioasă care necesită laborator și personal specializat. Cele mai frecvente metode de tipizare utilizate au fost imunofluorescența (46%) și secvențierea ADN (31%).

Creșterea incidenței cazurilor de amiloidoză a fost surprinsă și în studiul nostru care s-a desfășurat pe o perioadă de 20 de ani. Astfel, peste jumătate (59,4%) dintre pacienții cu amiloidoză au fost diagnosticați în ultimii 5 ani (2016-2020). Similar cu datele din literatură, creșterea incidenței cazurilor de amiloidoză se datorează amiloidozelor non-AL, în special amiloidozei familiale tip transtiretină.

Amiloidoza fiind o boală rară, primul pas în stabilirea diagnosticului este considerarea acesteia ca posibil diagnostic diferențial la pacienții cu sindroame clinice sugestive. Deși această patologie a devenit mai cunoscută în ultimii ani, pacienții continuă să fie suspectați (uneori chiar diagnosticați și tratați) de numeroase alte boli înainte de a se stabili diagnosticul de amiloidoză. O unitate de măsură utilă a acestui fenomen este chiar durata debut-diagnostic, care nu a prezentat o modificare semnificativă statistic înainte și după anul 2015. În plus, amiloidozele non-AL, care sunt mai rare, mai puțin cunoscute, dar

și cu o evoluție mai lentă, prezintă o durată medie debut-diagnostic mult mai mare decât amiloidoza AL (48,6 luni vs. 12,6 luni).

Pacienții cu amiloidoză AL au cea mai mare frecvență în lotul de studiu, reprezentând 76% din cazurile de amiloidoză diagnosticate. Datele demografice corespund datelor din literatură, cu ușoară predominanță masculină și vârsta mediană de 62 ani.

Pentru estimarea subdiagnosticării amiloidozei AL, a fost estimată incidența în România la 336,6 cazuri/an (pornind de la datele din literatură). Având în vedere creșterea numărului de cazuri în ultimii 5 ani, incidența medie a cazurilor AL din studiu pentru perioada 2015-2020 a fost calculată la 19 pacienți/an.

Cele mai frecvente simptome de debut întâlnite la pacienții cu AL au fost edemele, paresteziile, sindromul Sicca, scăderea ponderală și astenia fizică. Cele mai frecvente organe afectate au fost: rinichiul (67,9%), cordul (59,5%), SNP (53,2%), SNV (39,5%) și părțile moi (25,3%).

Având în vedere caracterul sistemic al amiloidozei AL, am definit și am analizat pacienții în funcție de predominanța de organ. Cele mai frecvente predominanțe de organ au fost renală (40%), cardiacă (36%), hepatică (8%) și de sistem nervos (7%). Am urmărit caracteristicile particulare ale fiecărei predominanțe de organ, în vederea identificării semnelor de alarmă.

Prezența monoclonalității lanțului kappa poate fi orientativă asupra absenței predominanței cardiace. Debutul cu astenie și meteorism abdominal la un pacient cu AL pot sugera predominanța hepatică. Asocierea lanțului greu monoclonal la pacientul cu AL poate fi un semn al predominanței SNP. Predominanța de părți moi asociază o infiltrare plasmocitară mai mare și o durată debut-diagnostic mai crescută. Aceste rezultate necesită confirmare în cadrul studiilor prospective.

Din punctul de vedere al riscului citogenetic, pacienții studiați au prezentat cel mai frecvent deleție 17p (87,5% dintre anomaliile identificate). Principala limită a acestui studiu este absența testării translocăției t(11;14), aceasta fiind cea mai întâlnită la pacienții cu AL.

Supraviețuirea mediană a pacienților cu AL a fost de 19 luni. În mod particular, pacienții cu AL din studiu au avut o supraviețuire mai redusă în absența lanțului greu monoclonal și în prezența depozitelor de amiloid la biopsia osteomedulară. De asemenea,

pacienții care au debutat cu astenie fizică, scădere ponderală, inapetență sau tuse au avut supraviețuiri mediane mai reduse.

Amiloidoza familială tip transtiretină a fost a doua cea mai frecventă formă de amiloidoză la pacienții studiați. Incidența pacienților cu ATTRh în România a fost 1,81/milionul de locuitori, încadrând țara noastră între zonele non-endemice. De asemenea, similar cu zonele non-endemice, mutațiile cele mai prevalente sunt cele non-Val30Met. În cazul României, cea mai frecventă este Glu54Gln, o mutație specifică României, cu fenotip mixt și debut precoce. Supraviețuirea mediană a pacienților ATTRh Glu54Gln a fost de 60 luni.

Amiloidoza familială tip lizozim este o boală ereditară foarte rară, fiind descrise numai 10 mutații amiloidogene la nivel global. Identificarea mutației Asp67Gly, depistată în România, a fost făcută în 2005 de către grupul de la Fundeni, iar cazurile incluse în studiul nostru sunt singurele diagnosticate la nivel mondial. A fost înregistrat un singur deces, perioada mediană de urmărire fiind de 13,5 ani.

Amiloidoza AA este o complicație a bolilor inflamatorii cronice, pacienții fiind adesea urmăriți de medicul reumatolog anterior apariției amiloidozei. Frecvența redusă a cazurilor AA în studiul nostru este probabil legată de subdiagnosticare. Supraviețuirea mediană a pacienților din studiul nostru a fost de 46 luni.

Similar cu pacienții cu AA, pacienții diagnosticați cu ATTRwt au avut o frecvență foarte mică. Cauza probabilă este prezentarea predominant cardiacă, la pacientul vârstnic, investigată cardiologic și tratată ca o insuficiență cardiacă de altă cauză.

Capitolul 7. Contribuții personale

Acesta reprezintă cel mai mare studiu al pacienților cu amiloidoză din România, fiind evaluați pacienții cu amiloidoză sistemică diagnosticați într-un interval de 20 ani (2001-2020). Am analizat metodele de tipizare și rezultatele tipizării, am evaluat incidența cazurilor de amiloidoză sistemică în funcție de perioada de diagnostic și am analizat caracteristicile pacienților cu amiloidoză în funcție de tipul de amiloidoză.

Am arătat că amiloidoza este subdiagnosticată în România, prin evidențierea incidenței reduse a cazurilor într-un centru de expertiză din țară. Ca expresie a rolului de centru de expertiză în amiloidoză a Clinicii de Hematologie Fundeni, se observă o distribuție a domiciliului pacienților cu amiloidoză AL în 34 județe diferite, cei mai mulți (32,1%) provenind totuși din București.

Studiul nostru arată alinierea la tendința internațională de creștere a incidenței amiloidozelor. Această creștere este explicată de îmbunătățirea cunoașterii acestei patologii, creșterea adresabilității pacienților către hematolog și campaniei de identificare a pacienților cu amiloidoză familială tip transtiretină ("Caravana ATTRh").

Am prezentat varietatea tipurilor de amiloidoză identificate și am descris fenotipul amiloidozelor ereditare rare și specifice României (ATTRh Glu54Gln și ALys Asp67Gly). Am identificat zonele de origine ale pacienților cu amiloidoză ereditară și am demonstrat originea comună a pacienților cu ATTRh Glu54Gln în Nord-Estul României.

Având în vedere diferențele de prognostic în funcție de afectarea de organ, am definit și caracterizat predominanța de organ pentru pacienții cu AL. Am urmărit caracteristicile particulare ale fiecărei predominanțe de organ, în vederea identificării semnelor de alarmă. Diferențierea între predominanțele de organ este utilă pentru evaluarea riscului imediat al pacientului în cazul predominanței cardiace sau riscului de progresie spre dializă (pierderea funcției renale) pentru afectarea predominantă renală.

Studiul nostru evidențiază importanța tipizării pentru diagnosticul și prognosticul pacienților cu amiloidoză, dar și importanța accesului la metodele de tipizare adecvate pentru un diagnostic de certitudine. Este esențială existența unui centru de expertiză, cu echipă multidisciplinară și laborator specializat pentru diagnosticul de certitudine, tipizarea și managementul pacientului cu amiloidoză.

Bibliografie Selectivă

1. Gertz M, Kyle R. Amyloidosis: Prognosis and treatment. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 24(2): 124-138, 1994.
2. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, Merlini G, Saraiva MJM, Sekijima Y, Sipe JD, Westermark P. Amyloid nomenclature 2020: update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 27(4):217-222, 2020.
3. Zampieri M, Nardi G, Del Monaco G, Allinovi M, Gabriele M, Zocchi C, Casagrande S, Fumagalli C, Di Mario C, Olivotto I, Perfetto F, Cappelli F. Changes in the perceived epidemiology of amyloidosis: 20 year-experience from a Tertiary Referral Centre in Tuscany. *Int J Cardiol*. 15(335):123-127, 2021.
4. Zhang N, Cherepanov D, Romanus D, Kumar N, Hughes M, Faller D. Estimating the Global Epidemiology of Amyloid Light-Chain Amyloidosis With an Incidence-to-Prevalence Model. *17th Myeloma Workshop*, 2019.
5. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med*. 7;349(6):583-96, 2003.
6. Sunde M, Blake CC. From the globular to the fibrous state: protein structure and structural conversion in amyloid formation. *Q Rev Biophys*. 31(1):1-39, 1998.
7. Zampieri M, Nardi G, Del Monaco G, Allinovi M, Gabriele M, Zocchi C, Casagrande S, Fumagalli C, Di Mario C, Olivotto I, Perfetto F, Cappelli F. Changes in the perceived epidemiology of amyloidosis: 20 year-experience from a Tertiary Referral Centre in Tuscany. *Int J Cardiol*. 15(335):123-127, 2021.
8. Zhang N, Cherepanov D, Romanus D, Kumar N, Hughes M, Faller D. Estimating the Global Epidemiology of Amyloid Light-Chain Amyloidosis With an Incidence-to-Prevalence Model. *17th Myeloma Workshop*, 2019.
9. Nomenclature of amyloid and amyloidosis. WHO-IUIS Nomenclature Sub-Committee. *Bull World Health Organ*. 71(1):105-12, 1993.
10. Sunde M, Blake CC. From the globular to the fibrous state: protein structure and structural conversion in amyloid formation. *Q Rev Biophys*. 31(1):1-39, 1998.
11. Quock TP, Yan T, Chang E, Guthrie S, Broder MS. Epidemiology of AL amyloidosis: a real-world study using US claims data. *Blood Adv*, 2(10): 1046-1053, 2018.

12. Kyle RA, Larson DR, Kurtin PJ, Kumar S, Cerhan JR, Therneau TM, Rajkumar SV, Vachon CM, Dispenzieri A. Incidence of AL Amyloidosis in Olmsted County, Minnesota, 1990 through 2015. *Mayo Clin Proc.*, 94(3):465-471, 2019.
13. Lousada I, Comenzo RL, Landau H, Guthrie S, Merlini G. Light chain amyloidosis: patient experience survey from the amyloidosis research consortium. *Adv Ther United States*, 32:920–8, 2015.
14. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, Kumar S, Hillengass J, Kastritis E, Richardson P, Landgren O, Paiva B, Dispenzieri A, Weiss B, LeLeu X, Zweegman S, Lonial S, Rosinol L, Zamagni E, Jagannath S, Sezer O, Kristinsson SY, Caers J, Usmani SZ, Lahuerta JJ, Johnsen HE, Beksac M, Cavo M, Goldschmidt H, Terpos E, Kyle RA, Anderson KC, Durie BG, Miguel JF. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.*, 15(12):e538-48, 2014.
15. Gertz MA, Comenzo R, Falk RH, Fermand JP, Hazenberg BP, Hawkins PN, Merlini G, Moreau P, Ronco P, Santhorawala V, Sezer O, Solomon A, Gateau G. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, *Am J Hematol.* 79(4):319-28, 2005.
16. Grogan M, Dispenzieri A, Gertz MA. Light-chain cardiac amyloidosis: strategies to promote early diagnosis and cardiac response. *Heart.* 103(14):1065-1072, 2017.
17. Muchtar E, Buadi FK, Dispenzieri A, Gertz MA. Immunoglobulin Light-Chain Amyloidosis: From Basics to New Developments in Diagnosis, Prognosis and Therapy. *Acta Haematol.* 135(3):172-90, 2016.
18. Mohty D, Damy T, Cosnay P, Echahidi N, Casset-Senon D, Virot P, Jaccard A. Cardiac amyloidosis: updates in diagnosis and management. *Arch Cardiovasc Dis.* 106(10):528-40, 2013.
19. Palladini G, Campana C, Klersy C, Balduini A, Vadacca G, Perfetti V, Perlini S, Obici L, Ascari E, d'Eril GM, Moratti R, Merlini G. Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. *Circulation.* 107(19):2440-5, 2003.
20. Aljama MA, Sidiqi MH, Dispenzieri A, Gertz MA, Lacy MQ, Buadi FK, Dingli D, Muchtar E, Fonder AL, Hayman SR, Hobbs MA, Gonsalves WI, Warsame RM, Kourelis T, Hwa YL, Kapoor P, Leung N, Go RS, Kyle RA, Rajkumar SV, Kumar

- SK. Comparison of different techniques to identify cardiac involvement in immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis. *Blood Adv.* 3(8):1226-1229, 2019.
21. Muchtar E, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, Dingli D, Leung N, Buadi FK, Hayman SR, Kapoor P, Hwa YL, Fonder A, Hobbs M, Gonsalves W, Kourelis TV, Warsame R, Russell S, Lust JA, Lin Y, Go RS, Zeldenrust S, Rajkumar SV, Kumar SK, Dispenzieri A. A Modern Primer on Light Chain Amyloidosis in 592 Patients With Mass Spectrometry-Verified Typing. *Mayo Clin Proc.* 94(3):472-483, 2019.
22. Kaur D, Tiwana H, Stino A, Sandroni P. Autonomic neuropathies. *Muscle Nerve.* 63(1):10-21, 2021.
23. Takao S, Tanaka K, Miyazaki M, Tanaka M, Ohashi T, Kato M, Kotoh K, Aishima S, Takayanagi R. A case of fatal intrahepatic cholestasis with primary AL amyloidosis: is early diagnosis possible? *Clin J Gastroenterol.* 6(5):386-9, 2013.
24. Menke DM, Kyle RA, Fleming CR, Wolfe JT 3rd, Kurtin PJ, Oldenburg WA. Symptomatic gastric amyloidosis in patients with primary systemic amyloidosis. *Mayo Clin Proc.* 68(8):763-7, 1993.
25. Hayman SR, Lacy MQ, Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: a cause of malabsorption syndrome. *Am J Med.* 111(7):535-40, 2001.
26. Kim SH, Kang EJ, Park JW, Jo JH, Kim SJ, Cho JH, Kang MJ, Park BH. Gastrointestinal amyloidosis presenting with multiple episodes of gastrointestinal bleeding. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 32(3):577-80, 2009.
27. Suchartlikitwong S, Tantrachoti P, Mingbunjerdasuk T, Laoveeravat P, Rakvit A. Gastrointestinal Polyps and Hemorrhage as a Presentation of Primary Systemic Light Chain Amyloidosis. *ACG Case Rep J.* 5:e44, 2018.
28. Milani P, Basset M, Russo F, Foli A, Palladini G, Merlini G. The lung in amyloidosis. *Eur Respir Rev.* 26(145):170046, 2017.
29. Schmidt HH, Waddington-Cruz M, Botteman MF, Carter JA, Chopra AS, Hopps M, Stewart M, Fallet S, Amass L. Estimating the global prevalence of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 57(5):829-837, 2018.
30. González-Duarte A, Conceição I, Amass L, Botteman MF, Carter JA, Stewart M. Impact of Non-Cardiac Clinicopathologic Characteristics on Survival in Transthyretin Amyloid Polyneuropathy. *Neurol Ther.* 9(1):135-149, 2020.
31. Semigran MJ. Transthyretin Amyloidosis: A "Zebra" of Many Stripes. *J Am Coll Cardiol.* 68(2):173-5, 2016.

32. Soares ML, Coelho T, Sousa A, Holmgren G, Saraiva MJ, Kastner DL, Buxbaum JN. Haplotypes and DNA sequence variation within and surrounding the transthyretin gene: genotype-phenotype correlations in familial amyloid polyneuropathy (V30M) in Portugal and Sweden. *Eur J Hum Genet.* 12(3):225-37, 2004.
33. Coriu D, Ailenei C, Talmaci R, Badelita S, Dobrea C, Murphy CL & Solomon A. New transthyretin variant Glu54Gln associated with familial amyloidosis. *XIIIth Int Symposium Amyloidosis*, 357-360, 2012.
34. González-López E, Gagliardi C, Dominguez F, Quarta CC, de Haro-Del Moral FJ, Milandri A, Salas C, Cinelli M, Cobo-Marcos M, Lorenzini M, Lara-Pezzi E, Foffi S, Alonso-Pulpon L, Rapezzi C, Garcia-Pavia P. Clinical characteristics of wild-type transthyretin cardiac amyloidosis: disproving myths. *Eur Heart J.* 38(24):1895-1904, 2017.
35. Lindmark K, Pilebro B, Sundström T, Lindqvist P. Prevalence of wild type transthyretin cardiac amyloidosis in a heart failure clinic. *ESC Heart Fail.* 8(1):745-749, 2021.
36. Dumoulin M, Johnson RJK, Bellotti V, Dobson CM. Human Lysozyme. Protein Misfolding, Aggregation, and Conformational Diseases. Protein Review. *Springer.* Boston, 2007.
37. Scafi M, Valleix S, Benyamine A, Jean E, Harlé JR, Rossi P, Daniel L, Schleinitz N, Granel B. L'amylose à lysozyme [Lysozyme amyloidosis]. *Rev Med Interne.* 40(5):323-329, 2019. French.
38. Pleyer C, Flesche J, Saeed F. Lysozyme amyloidosis - a case report and review of the literature. *Clin Nephrol Case Stud.* 3:42-45, 2015.
39. Granel B, Valleix S, Serratrice J, Chérin P, Texeira A, Disdier P, Weiller PJ, Grateau G. Lysozyme amyloidosis: report of 4 cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 85(1):66-73, 2006.
40. Coriu, D. Hereditary systemic amyloidosis caused by a new variant lysozyme (D67G) in a Romanian family. *Haematologica – The Hematology Journal*, 92(Suppl. 1):448, 2007.
41. Pinney JH, Lachmann HJ. Systemic AA amyloidosis. *Subcell Biochem.* 65:541-64, 2012.
42. Brunger AF, Nienhuis HLA, Bijzet J, Hazenberg BPC. Causes of AA amyloidosis: a systematic review. *Amyloid.* 27(1):1-12, 2020.

43. Goldfinger SE. Colchicine for familial Mediterranean fever. *N Engl J Med.* 287(25):1302, 1972.
44. Staron A, Zheng L, Doros G, Connors LH, Mendelson LM, Joshi T, Sanchorawala V. Marked progress in AL amyloidosis survival: a 40-year longitudinal natural history study. *Blood Cancer J.* 11(8):139, 2021.

LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

Articole

1. **Jercan A, Bădeliță S, Drăghici M, Stoica E, Iacob S, Coriu D. Clinical manifestations in hereditary amyloidosis with the variant Glu54Gln transthyretin.** *Amyloid.* 2019;26(sup1):31-32. doi: 10.1080/13506129.2019.1582501. PMID: 31343281. Indexat PubMed, Factor de impact 6.571 (Capitolul 5),
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13506129.2019.1582501>
2. **Jercan A, Ene A, Jurcuț R, Drăghici M, Bădeliță S, Dragomir M, Dobrea C, Popescu M, Jardan D, Stoica E, Iacob S, Codita I, Stan C, Coriu D. Clinical characteristics in patients with hereditary amyloidosis with Glu54Gln transthyretin identified in the Romanian population.** *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Jan 30;15(1):34. doi: 10.1186/s13023-020-1309-9. PMID: 32000831; PMCID: PMC6993313. Indexat PubMed, Factor de impact 3,511 (Capitolul 5)
<https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13023-020-1309-9>
3. **Drăghici M, Jercan A, Bădeliță SN, Irimia RM, Bastian AE, Dobrea C, Popescu M, Coriu D. Muscle involvement with pseudohypertrophy in systemic light chain amyloidosis: Case report.** *Medicine (Baltimore).* 2021 Dec 23;100(51):e28267. doi: 10.1097/MD.00000000000028267. PMID: 34941106; PMCID: PMC8702120. Indexat PubMed, Factor de impact 1,889 (Capitolul 5)
https://journals.lww.com/md-journal/Fulltext/2021/12230/Muscle_involvement_with_pseudohypertrophy_in.82.aspx
4. **Adam RD, Coriu D, Jercan A, Bădeliță S, Popescu BA, Damy T, Jurcuț R. Progress and challenges in the treatment of cardiac amyloidosis: a review of the literature.** *ESC Heart Fail.* 2021 Aug;8(4):2380-2396. doi: 10.1002/ehf2.13443. Epub 2021 Jun 5. PMID: 34089308; PMCID: PMC8318516. Indexat PubMed, Factor de impact 3.612 (Capitolul 5)
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ehf2.13443>

Abstracte publicate

1. Adam R, **Jercan A**, Bădeliță S, Fruntelată AG, Ciudin R, Popescu BA, Ginghină C, Drăghici M, Coriu D, Jurcuț R, **Heart failure by beta blockers. Could this suggest the etiology?** May 2019. European Journal of Heart Failure. 21 (1), 591, doi: 10.1002/ejhf.1488. PMID: 32745277; PMCID: PMC7190084. Indexat PubMed, Factor de impact 3.612
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejhf.1488>
2. Adam RS, **Jercan A**, Bădeliță S, Coriu D, Stan C, Șerban M, Beladan C, Roșca M, Balahura AM, Ginghină C, Popescu BA, Jurcuț R. **Cardiac amyloidosis is not a single disease: an echocardiographic study of light chain vs transthyretin forms.** Jan 2020. European Heart Journal – Cardiovascular Imaging, 20 (1), <https://doi.org/10.1093/ehjci/jez319.083> Factor de impact 6,875, Indexat PubMed, Factor de impact 9.130
https://academic.oup.com/ehjci/article/21/Supplement_1/jez319.083/708508
3. Iacob S, **Jercan A**, Bădeliță S, Dobrea C, Jurcuț R, Popescu M, Ghioca M, Iacob R, Gheorghe L, Coriu D. **Systemic light chain AL with cardiac and liver involvement can be predicted by transient elastography.** 2020. Journal of Hepatology 73 (Supplement 1), S782, Indexat PubMed, Factor de impact 30,083
[https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(20\)32011-0/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(20)32011-0/fulltext)
4. **Jercan A**, Bădeliță S, Jurcuț R, Drăghici M, Beyer R, Neagu D, Dragomir M, Jardan D, Stan CA, Dobrea C, Coriu D. **The clinical phenotype of a novel TTR variant (Glu89Val) in patients with hereditary amyloidosis.** Jul 2022. Journal of the peripheral nervous system: Abstracts of the 2022 Peripheral Nerve Society Annual Meeting, 27 (Supplement 3), DOI: 10.1111/jns.12506, Indexat PubMed, Factor de impact 5,188
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jns.12506>