

doi: 10.3897/bgcardio.30.e127340

## НАСЛЕДСТВЕНА И ДИВ ТИП ТРАНСТИРЕТИНОВА АМИЛОИДНА КАРДИОМИОПАТИЯ В БЪЛГАРИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СЪМНЕНИЕ ЗА СЪРДЕЧНА АМИЛОИДОЗА

**С. Стефанов<sup>1</sup>, Н. Стоянов<sup>2</sup>, Н. Колева<sup>3</sup>, Д. Микова<sup>4</sup>, А. Йорданов<sup>5</sup>, З. Павлова<sup>6</sup>, Е. Кинова<sup>7</sup>, И. Петрова<sup>8</sup>,  
Л. Демиревска<sup>9</sup>, Т. Тодоров<sup>6</sup>, Т. Чамова<sup>10</sup>, М. Гарчева<sup>11</sup>, А. Кундурджиев<sup>12</sup>, А. Тодорова<sup>6, 13</sup>, И. Търнев<sup>10, 14</sup>,  
Й. Палашев<sup>4, 15</sup>, И. Даскалов<sup>9</sup>, М. Димова<sup>16</sup>, И. Груев<sup>3</sup>, Й. Йотов<sup>17</sup>, А. Гудев<sup>7</sup>, В. Велчев<sup>2</sup>, М. Господинова<sup>18</sup>**

<sup>1</sup>УМБАЛ „Света Екатерина“ – София, <sup>2</sup>Клиника по кардиология, УМБАЛ „Света Анна“ – София,  
<sup>3</sup>Национална многопрофилна транспортна болница „Цар Борис III“ – София,  
<sup>4</sup>Отделение по нуклеарна медицина, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ – София,  
<sup>5</sup>Клиника по хематология и онкология, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ – София,  
<sup>6</sup>Генетична лаборатория „Геника“ – София, <sup>7</sup>Клиника по кардиология, УМБАЛ „Царица Йоанна-ИСУЛ“ – София,  
<sup>8</sup>Клиника по кардиология, МБАЛ Национална кардиологична болница – София,  
<sup>9</sup>Клиника по кардиология, МБАЛ – София, Военномедицинска академия,  
<sup>10</sup>Клиника по неврология, УМБАЛ „Александровска“ – София,  
<sup>11</sup>Клиника по нуклеарна медицина, Аджибадем Сити Клиник УМБАЛ Младост – София,  
<sup>12</sup>Клиника по нефрология, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ – София,  
<sup>13</sup>Катедра по биохимия, Медицински университет – София,  
<sup>14</sup>Департамент „Когнитивна наука и психология“, Нов български университет – София,  
<sup>15</sup>Клиничен център по нуклеарна медицина и лъчелечение, Медицински университет – София,  
<sup>16</sup>Клиника по вътрешни болести, УМБАЛ „Света Марина“, МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна,  
<sup>17</sup>Отделение по неинвазивна кардиология, II клиника по кардиология, УМБАЛ „Света Марина“, МУ – Варна,  
<sup>18</sup>УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ – София

## HEREDITARY AND WILD TYPE TRANSTHYRETIN AMYLOID CARDIOMYOPATHY IN BULGARIA IN PATIENTS SUSPECTED FOR CARDIAC AMYLOIDOSIS

**S. Stefanov<sup>1</sup>, N. Stoyanov<sup>2</sup>, N. Koleva<sup>3</sup>, D. Mikova<sup>4</sup>, A. Yordanov<sup>5</sup>, Z. Pavlova<sup>6</sup>, E. Kinova<sup>7</sup>, I. Petrova<sup>8</sup>,  
L. Demirevska<sup>9</sup>, T. Todorov<sup>6</sup>, T. Chamova<sup>10</sup>, M. Garcheva<sup>11</sup>, A. Kundurdjiev<sup>12</sup>, A. Todorova<sup>6, 13</sup>, I. Tournev<sup>10, 14</sup>,  
Y. Palashev<sup>4, 15</sup>, I. Daskalov<sup>9</sup>, M. Dimova<sup>16</sup>, I. Gruev<sup>3</sup>, Y. Yotov<sup>17</sup>, A. Goudev<sup>7</sup>, V. Velchev<sup>2</sup>, M. Gospodinova<sup>18</sup>**

<sup>1</sup>UMHAT „Sveta Ekaterina“ – Sofia, <sup>2</sup>Clinic of Cardiology, UMHAT „Sveta Anna“ – Sofia,  
<sup>3</sup>National Multiprofile Transport Hospital „Tsar Boris III“ – Sofia,  
<sup>4</sup>Department of Nuclear Medicine, UMHAT „Sveti Ivan Rilski“ – Sofia,  
<sup>5</sup>Clinic of Hematology and Oncology, UMHAT „Sveti Ivan Rilski“ – Sofia,  
<sup>6</sup>Genetic laboratory „Genika“ – Sofia, <sup>7</sup>Clinic of Cardiology, UMHAT „Tsaritsa Yoanna – ISUL“ – Sofia,  
<sup>8</sup>Clinic of Cardiology, National Heart Hospital – Sofia,  
<sup>9</sup>Clinic of Cardiology, Military Medical Academy – Sofia,  
<sup>10</sup>Clinic of Neurology, UMHAT „Alexandrovska“ – Sofia,  
<sup>11</sup>Clinic of Nuclear Medicine, Acibadem City Clinic Mladost – Sofia,  
<sup>12</sup>Clinic of Nephrology, UMHAT „Sveti Ivan Rilski“ – Sofia,  
<sup>13</sup>Department of Biochemistry, Medical University – Sofia,  
<sup>14</sup>Department of Cognitive Science and Psychology, New Bulgarian University – Sofia,  
<sup>15</sup>Clinical Center of Nuclear Medicine and Radiology, Medical University – Sofia,  
<sup>16</sup>Internal Medicine Clinic, UMHAT „Sveta Marina“, MU „Prof. Dr. P. Stoyanov“ – Varna,  
<sup>17</sup>Second Cardiology Clinic – noninvasive, UMHAT „Sveta Marina“, MU „Prof. Dr. P. Stoyanov“ – Varna,  
<sup>18</sup> UMHAT „Sveti Ivan Rilski“ – Sofia

### Резюме.

**Въведение:** Транстиретиновата амилоидна кардиомиопатия (ATTR-CM) е тежко прогресиращо заболяване, по-често срещано от известното доскоро. Основната цел бе да се оцени разпростра-

нението и клиничните прояви на наследствената и на див тип ATTR-CM. **Материал и методи:** Бяха оценени 178 пациенти на средна възраст  $68 \pm 13$  години (129 мъже), насочени със съмнение за сърдечна амилоидоза (дебелина на стената на лявата камера  $\geq 12$  mm и наличие на червени флагове). Степен 2-3 миокардно натрупване при скintiграфия с пирофосфат ( $^{99m}\text{Tc}$ -PYP) при липса на моноклонал протеин потвърждава диагнозата. Генетичен тест диференцира наследствен от див тип. При двама пациенти беше извършена ендомиокардна биопсия. **Резултати:** Сърдечна амилоидоза бе диагностицирана при 69 пациенти: лековерижна при 24 (13%) и ATTR-CM при 45 пациенти (25%). Див тип (ATTRwt) беше открит при 21 (12%) пациенти от мъжки пол на средна възраст  $81 \pm 6$  години и вариант тип (ATTRv) при 24 (13%) на средна възраст  $58 \pm 7$  години (15 мъже). Най-честите клинични насочващи критерии при диагностициране както на ATTRv, така и на ATTRwt бяха сърдечна недостатъчност при всички пациенти, предсърдно мъждене (16; 36%), пейсмейкър (5; 11%), синдром на карпалния тунел (8; 18%) и периферна полиневропатия при ATTRv. Тежка аортна стеноза (4; 19%), спинална стеноза (2; 10%), разкъсване на сухожилие на двуглавия брахиален мускул (1; 5%) бяха установени при дивия тип. При проследяване при 4 допълнителни пациенти беше имплантиран пейсмейкър поради високостепенен AV блок, при 6 се установи предсърдно мъждене, 17 пациенти се нуждаеха от започване или от увеличаване на дозата на бримковия диуретик, други 7 пациенти бяха хоспитализирани с изострена сърдечна недостатъчност. Осем пациенти (18%) починаха – 7 (33%) с ATTRwt-CM и 1 (4%) с ATTRv-CM, всички с напреднала сърдечна недостатъчност, 4 със съпътстваща тежка аортна стеноза. **Заключение:** Това проучване предоставя данни за честотата и клиничните прояви на ATTR-CM. Потвърждавайки тежестта на заболяването и лошата прогноза е необходим нисък праг за скрининг с цел ранна диагностика и навременно лечение.

**Ключови думи:** амилоидоза, транстиретинова кардиомиопатия, червени флагове, скрининг, честота  
**Адрес за кореспонденция:** Д-р Стоян Стефанов, УМБАЛ „Света Екатерина“, Бул. "Пенчо Славейков № 52А, 1431 София, e-mail: stoyan.s.stefanov@gmail.com

**Abstract.** **Introduction:** Transthyretin amyloid cardiomyopathy (ATTR-CM) is a severe progressive disease, more common than previously expected. The main objectives were to evaluate hereditary and wild type ATTR-CM frequency and clinical manifestations. **Material and methods:** One hundred seventy-eight patients at mean age  $68 \pm 13$  years (129 males), referred by cardiologists with suspected cardiac amyloidosis (left ventricular wall thickness  $\geq 12$  mm and red flags) were evaluated. Pyrophosphate scintigraphy ( $^{99m}\text{Tc}$ -PYP) grade 2-3 myocardial uptake in the absence of monoclonal protein confirmed the diagnosis. Genetic test differentiated variant from wild type ATTR-CM. Endomyocardial biopsy with amyloid typing was performed in two patients. **Results:** Cardiac amyloidosis was diagnosed in 69 patients: light chain in 24 (13%) and ATTR-CM in 45 patients (25%). Wild type (ATTRwt) was found in 21 (12%) male patients at mean age  $81 \pm 6$  years and variant type (ATTRv) in 24 patients (13%) at mean age  $58 \pm 7$  years (15 males). In all ATTRv-CM patients some degree of peripheral polyneuropathy was found. The most common clinical red flags at diagnosis in both ATTRv and ATTRwt were heart failure in all patients, atrial fibrillation (16; 36%), pacemaker (5; 11%), and carpal tunnel syndrome (8; 18%). Severe aortic stenosis (4; 19%), spinal stenosis (2; 10%), biceps tendon rupture (1; 5%) were characteristic for the wild type. At follow up, four patients needed a pacemaker for high degree AV block, six patients developed new onset atrial fibrillation, seventeen patients needed either initiation or an increase of the dose of loop diuretic, another 7 patients were hospitalized for heart failure exacerbation. Eight patients (18%) died, 7 (33%) with ATTRwt-CM and 1 (4%) with ATTRv-CM, all with advanced heart failure, 4 with concomitant severe aortic stenosis. **Conclusions:** This study provides the first nationwide estimates of the frequency and the clinical manifestations of ATTR-CM. Confirming the severity of the disease and poor prognosis, a low threshold for screening is needed for early diagnosis and timely treatment.

**Key words:** amyloidosis, transthyretin cardiomyopathy, red flags, screening, frequency

**Address for correspondence:** Stoyan Stefanov, MD, UMHAT "Sveta Ekaterina" – Sofia, 52A Pencho Slaveykov Blvd., BG – 1431 Sofia, stoyan.s.stefanov@gmail.com

## ВЪВЕДЕНИЕ

Амилоидозата е състояние, характеризиращо се с натрупване на патологични фибриларни протеини в органите и причиняващи дисфункция [1]. Сърдечната амилоидоза в повече от 98% от случаите е вторична

## INTRODUCTION

Amyloidosis is a condition characterized by accumulation of pathologic fibrillar proteins in organs causing dysfunction [1]. Cardiac amyloidosis, in more than 98% of cases is secondary to the accumulation of amy-

на натрупването на амилоидни фибрили, образувани от леки вериги на имуноглобулини (AL) или транстиретин (ATTR) [2]. ATTR амилоидозата се подразделя допълнително на сърдечна амилоидоза от див тип, дължаща се на амилоидни фибрили, съставени от немутантен транстиретин от див тип (ATTRwt) и наследствена форма, причинена от мутации в гена за транстиретин на хромозома 18 (ATTRv) [2]. Сърдечната AL амилоидоза има много лоша прогноза, като повечето проучвания съобщават за средна преживяемост от 6-12 месеца от диагностицирането [3]. Прогнозата при сърдечната ATTR амилоидоза е по-добра, отколкото за AL тип, със средна преживяемост обикновено 2-6 години [2]. Забавената диагноза поради липса на осведоменост за заболяването и погрешна диагноза води до неблагоприятна прогноза. Въпреки че точното разпространение на ATTRwt е неизвестно, почти сигурно тя е най-честата причина за сърдечна амилоидоза, особено при възрастните хора, като потенциално се среща при до 13% от възрастните пациенти със сърдечна недостатъчност (CH) [4]. Наследствената транстиретинова амилоидоза (ATTRv) може да се класифицира в два основни фенотипа: сърдечен и неврологичен, които рядко се срещат като изолирана форма [2]. Чрез използването на базираната на <sup>99</sup>Tc костна сцинтиграфия – образен метод, за който има достатъчно убедителни доказателства, че е точен неинвазивен инструмент за диагностициране на ATTR-CM, броят на пациентите, идентифицирани с това заболяване се е увеличил значително през последните години [5].

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проведохме обсервационно, проспективно проучване, обхващащо пациенти от цялата страна, с основна цел да оценим честотата на ATTR-CM сред пациенти със съмнение за сърдечна амилоидоза, следвайки настоящите критерии за неинвазивна диагностика. Също така оценихме клиничните прояви и клиничен изход. Периодът на изследване е от май 2021 г. до 31 януари 2024 г.

Критериите за включване бяха дебелина на стената на лявата камера (ЛК)  $\geq 12$  mm плюс наличие на насочващи критерии за заболяването [6]:

- възрастни пациенти със СН;
- несъответствие между дебелината на ЛК и QRS-комплекса на електрокардиограма (ЕКГ);
- AV блок, електрокардиостимулатор (ЕКС), предсърдно мъждене;
- инфилтративни характеристики, включително задебелени AV клапни платна, междупредсърдна преграда и свободната стена на дясна камера;
- намален GLS с апикално съхранение при ехокардиография;
- характерно късно гадолиниево усилване на сърдечен магнитен резонанс;

loid fibrils derived from immunoglobulin light chains (AL) or transthyretin (ATTR) [2]. ATTR amyloidosis is further subdivided into wild type cardiac amyloidosis, due to amyloid fibrils composed of wild-type non-mutant transthyretin (ATTRwt), and hereditary form, caused by mutations in the transthyretin gene on chromosome 18 (ATTRv). Cardiac AL amyloidosis has very poor prognosis, with most studies reporting median survival of 6-12 months from diagnosis [3]. Overall prognosis for cardiac ATTR amyloidosis is better than for the AL type, with median survival typically 2-6 years [2]. Delayed diagnosis due to lack of disease awareness and misdiagnosis results in a poor prognosis. Although the exact prevalence of ATTRwt is unknown, it is almost certainly the most common cause of cardiac amyloidosis, particularly in the elderly, potentially accounting for up to 13% of elderly patients with heart failure (HF). [4] Hereditary transthyretin amyloidosis (ATTRv) can be classified in two main phenotypes: cardiac and neurological, which are rarely found as an isolated form [2]. With <sup>99</sup>Tc based bone scintigraphy, an imaging modality, for which there is strong evidence being an accurate, noninvasive tool for diagnosing ATTR-CM, the number of patients identified as having this condition has increased significantly in the last years [5].

## PATIENTS AND METHODS

We conducted a nationwide, observational, cross-sectional, prospective study with the main purpose to estimate the frequency of ATTR-CM among patients with suspected cardiac amyloidosis, following the current criteria for non-invasive diagnosis. We also evaluated the clinical manifestations and outcome. It started in May 2021, and the final data was collected on the 31<sup>st</sup> of January 2024.

The inclusion criteria were LV wall thickness  $\geq 12$  mm plus the presence of red flags for the disease [6]:

- elderly patients with HF;
- discrepancy between left ventricular (LV) thickness and QRS voltage on ECG;
- AV block, pace-maker, atrial fibrillation;
- infiltrative features, including increased thickness of the AV valves, interatrial septum and RV free wall;
- reduction in longitudinal strain with apical sparing on echocardiography;
- characteristic late gadolinium enhancement on CMR;

- анамнеза за двустранен синдром на карпалния тунел, спинална стеноза или разкъсване на сухожилие на двуглавия брахиален мускул;
- симптоми на полиневропатия и/или автономна дисфункция;
- фамилна история и произход от ендемичен регион.

### Диагностична оценка

Диагностичната оценка започва с клинична и фамилна анамнеза, последвана от физикален преглед, ЕКГ и трансторакална ехокардиография и сърдечни биомаркери. Окончателната диагноза транстретинова амилоидна кардиомиопатия (ATTR-CM) беше поставена чрез неинвазивен алгоритъм, използвайки костна сцинтиграфия с бифосфонат  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфат ( $^{99m}\text{Tc}$ -PYP) с допълнително SPECT/CT изображение. Беше направена визуална оценка съгласно скората на Perugini: 0 – липса на сърдечно натрупване; степен 1 – леко натрупване по-малко от костите; степен 2 – умерено натрупване, равно на костите, и степен 3 – високо натрупване, по-голямо от това в костите [7]. За полуколичествена оценка беше изчислено съотношението сърдечно натрупване към контралатералната област (H/CL). Разпределението на радиофармацевтика между миокарда и сърдечния кръвен басейн се определя на SPECT/CT изображения. Положителен за ATTR-CM тест се счита в случаи с визуален резултат  $\geq 2$ , H/CL  $1 \geq 1,5$  и натрупване в миокарда, а не визуализация на кръвта в ЛК. Задължителни изследвания бяха електрофореза с имунофиксация на серум и урина и количество леки вериги (FLC) в серума, за да се изключи AL. Наличието на моноклонал протеин беше определено като абнормно при FLC съотношение ( $< 0,26$  или  $> 1,65$ ) или наличие на моноклонал белтък в серум или урина. При наличие на Perugini степен 2 и 3 миокардно натрупване на костен маркер, при липса на моноклонална гамапатия, приемаме диагнозата ATTR-CM [5, 8]. При пациенти със сърдечно натрупване степен 2 и 3 при костна сцинтиграфия и suspekten моноклонал протеин беше извършена ендомиокардна биопсия с имунохистохимия за диференциране на AL и ATTR сърдечна амилоидоза. При всички пациенти с положителна костна сцинтиграфия, т.е. степен 2 и 3, тестването за възможни амилоидогенни мутации в TTR гена е извършено чрез стандартна процедура за секвениране на Sanger на четирите TTR екзона. Беше проведено генетично консултиране на пациентите и семействата и беше предложен генетичен скрининг на близките в риск, който беше извършен след получаване на информирано съгласие. При всички пациенти с потвърден ATTRv-CM чрез генетично изследване беше извършена цялостна оценка за неврологично засягане.

- history of bilateral carpal tunnel syndrome, spinal stenosis or biceps tendon rupture;
- symptoms of polyneuropathy and/or dysautonomia;
- family history and endemic region origin.

### Diagnostic evaluation

The diagnostic evaluation started with the clinical and family history, followed by physical examination, electrocardiogram (ECG) and 2D echocardiography and cardiac biomarkers. The final diagnosis transthyretin amyloid cardiomyopathy (ATTR-CM) was determined through non-biopsy algorithm, using Bisphosphonate  $^{99m}\text{Tc}$ -pyrophosphate ( $^{99m}\text{Tc}$ -PYP) bone scintigraphy with additional SPECT/CT imaging. A visual evaluation was done according to Perugini score: 0 – absent cardiac uptake; grade 1 – mild uptake less than bone; grade 2 – moderate uptake equal to bone; and grade 3 – high uptake greater than bone [7]. For semi-quantitative evaluation the ratio heart to contralateral region uptake (H/CL) was calculated. The distribution of the radiopharmaceutical between the myocardium and cardiac blood pool was determined on SPECT/CT images. A positive for ATTR-CM test was considered in cases with visual score  $\geq 2$ , H/CL  $\geq 1.5$  and uptake in the myocardium rather than visualization of cardiac blood pool. Electrophoresis with immunofixation of serum and urine, and serum free light chains were performed to rule out light chain amyloidosis. The presence of a monoclonal protein will be defined as an abnormal FLC ratio ( $< 0.26$  or  $> 1.65$ ) or presence of a band on IFE of serum or urine. According to the Perugini grading scale grade 2 and 3 bone tracer myocardial uptake in the absence of monoclonal gammopathy confirmed the diagnosis [5, 8]. In patients with cardiac uptake grade 2 and 3 on bone scintigraphy and monoclonal protein not ruled out, endomyocardial biopsy with immunohistochemistry was performed to differentiate between AL and ATTR cardiac amyloidosis. In all patients with positive bone scintigraphy, i.e. grade 2 and 3, testing for possible amyloidogenic mutations in the TTR gene was performed via standard Sanger sequencing procedure of the four TTR exons. A genetic counselling of the patients and the families was conducted and a genetic screening of the relatives at risk was proposed and performed after obtaining an informed consent. In all the patients with confirmed ATTRv-CM through genetic testing, a comprehensive neurological assessment was performed to evaluate the neurological involvement.

При всички пациенти, диагностицирани с ATTR-CM беше започнато лечение с тафамидис.

### Етични аспекти

Включените пациенти са лекувани съгласно обичайната клинична практика. Проучването е проведено в съответствие с Декларацията от Хелзинки и Закона за защита на личните данни.

### Статистически анализ

Непрекъснатите променливи бяха докладвани като средно  $\pm$  стандартно отклонение или медиана и интерквартилен диапазон (IQR). Категориалните променливи бяха отчетени като брой и процент. Извършен е описателен анализ на данните. Базовите данни бяха използвани за статистическия анализ.

## РЕЗУЛТАТИ

Оценени са 178 пациенти (129 мъже), насочени от кардиолози със съмнение за сърдечна амилоидоза. Средната възраст при първоначалната оценка е  $67 \pm 12$  години. Сърдечна амилоидоза е диагностицирана при 69 пациенти: AL при 24 (13%) и ATTR-CM при 45 пациенти (25%) от цялата група (фиг. 1). Вариантен тип (ATTRv) е открит при 24 пациенти (13%) на средна възраст  $58 \pm 7$  години (15 мъже) и див тип (ATTRwt) при 21 (12%) пациенти от мъжки пол на средна възраст  $81 \pm 6$  години. При 10 пациенти се установява фенотип на хипертрофична кардиомиопатия (ХКМП) (дебелина на ЛК  $\geq 15$  mm), а при останалите 99 пациенти със средна дебелина на стената на ЛК 13,5 mm, най-вероятната диагноза е хипертензивна кардиомиопатия. Диагностицирани са следните мутации (фиг. 2): Glu89Gln при 15, Val30Met при 4, Ser77Phe при 2 и Glu54Leu при 3 пациенти. Glu54Leu е нов за страната вариант с преобладаващ сърдечен фенотип. При един пациент, приемаме ATTRwt, е открит вариант с неизвестно значение p.Arg5His. Генетичният скрининг в членовете на семействата разкрива патогенен вариант при 39 асимптомни носители. При всички пациенти с ATTRv-CM е открита различна по тежест периферна полиневропатия и автономна дисфункция. Най-честите клинични прояви както при ATTRv, така и при ATTRwt са СН при всички пациенти, предсърдно мъждене (16; 36%), ЕКС (5; 11%) и синдром на карпалния тунел (8; 18%). Само при пациентите с ATTRwt-CM бяха установени тежка аортна стеноза (4; 19%), спинална стеноза (2; 10%) и разкъсване на сухожилието на двуглавия брахиален мускул (1; 5%) (фиг. 3). Основните клинични характеристики са представени в таблица 1.

### Проследяване

Пациентите с ATTR-CM са проследявани на всеки 6 месеца след поставяне на диагнозата и започване на специфично лечение: 8 пациенти (18%) са

Treatment with tafamidis was initiated in all diagnosed patients with ATTR-CM.

### Ethical Aspects

The patients included were treated following the usual clinical practice. The study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, and with the Law on the Protection of Personal Data.

### Statistical analysis

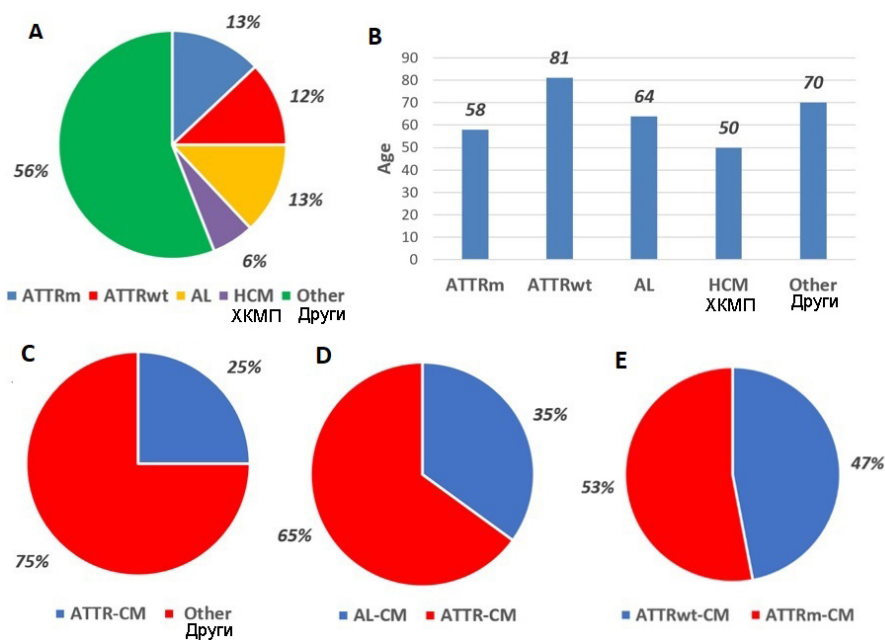
Continuous variables were reported as mean  $\pm$  standard deviation, or median and interquartile range (IQR). Categorical variables were reported as number and percentage. A descriptive analysis of the data was carried out. The baseline data were used for the statistical analysis.

## RESULTS

One hundred seventy-eight patients (129 males), referred by cardiologists with suspected cardiac amyloidosis have been evaluated. The mean age at evaluation was  $67 \pm 12$  years. Cardiac amyloidosis has been diagnosed in 69 patients: light chain in 24 (13%) and ATTR-CM in 45 patients (25%) from the whole cohort (Figure 1). Variant type (ATTRv) was found in 24 patients (13%) at mean age  $58 \pm 7$  years (15 males) and wild type (ATTRwt) in 21 (12%) male patients at mean age  $81 \pm 6$  years. Ten patients revealed hypertrophic cardiomyopathy (HCM) phenotype (LV thickness  $\geq 15$  mm) and in the rest 99 patients with median LV wall thickness of 13.5 mm, the most probable diagnosis was hypertensive heart disease. The following mutations have been diagnosed (Figure 2): Glu89Gln in 15, Val30Met in 4, Ser77Phe in 2 and Glu54Leu in 3 patients. Glu54Leu is novel for the country variant with predominant cardiac phenotype. In one patient, presumably with ATTRwt a variant of unknown significance p.Arg5His has been discovered. The genetic screening in the family members revealed a pathogenic variant in 39 asymptomatic carriers. In all ATTRv-CM patients some degree of peripheral polyneuropathy and autonomic dysfunction was found. The most common clinical red flags in both ATTRv and ATTRwt were HF manifestations in all patients, atrial fibrillation (16; 36%), pacemaker (5; 11%), carpal tunnel syndrome (8; 18%). Severe aortic stenosis (4; 19%), spinal stenosis (2; 10%) and biceps tendon rupture (1; 5%) were characteristic for the wild type (Figure3). The baseline clinical characteristics are presented in Table 1.

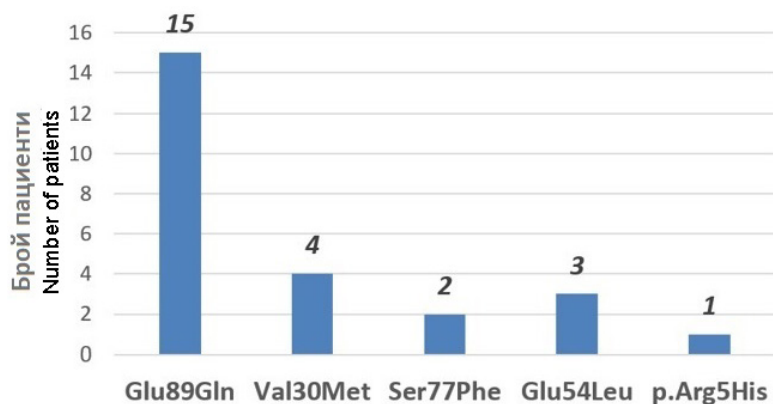
### Follow up

The patients with ATTR-CM were followed every six months after diagnosis and specific treatment initiation: 8 patients (18%) died, 7 (33%) with ATTRwt-CM



Фиг. 1. А – разпределение на пациентите според типа заболяване; В – разпределение по възраст; С – ATTR-CM пациенти спрямо всички други; D – Пациенти с ATTR-CM спрямо AL-CM; E – Пациенти с ATTRm-CM спрямо ATTRwt-CM

Fig. 1. A – distribution of patients according to disease type; B – distribution by age; C – ATTR-CM patients versus all others; D – ATTR-CM patients versus AL-CM patients; E – ATTRm-CM patients versus ATTRwt-CM patients.



Фиг. 2. Брой пациенти според вида мутация // Fig. 2. Number of patients according to mutation type



АС – аортна стеноза // AS – aortic stenosis

Фиг. 3. Брой пациенти с ATTR-CM с насочващи клинични критерии // Fig. 3. Number of patients with ATTR-CM with red flags

Таблица 1. Клинични характеристики  
Table 1. Clinical characteristics

Клинични характеристики Clinical variables	Всички All	ATTRv	ATTRwt	AL	ХКМП HCM	Други Others
Пациенти, брой (%) Patients, n (%)	178 (100)	24 (13)	21 (12)	24 (13)	10 (6)	99 (56)
Възраст, години [медиана, (IQR)] Age, years [median, (IQR)]	67(57;79)	62(54;70)	79(76;85)	64(61;71)	50(46;60)	70(65;76)
Мъже, брой (%) Male, n (%)	129 (72)	15 (62)	21 (100)	13 (54)	7 (70)	73 (74)
Систолично АН [медиана, (IQR)] SBP [median, (IQR)]	115 (107;127)	110 (100;120)	120 (115;125)	105 (98;113)	120 (105;125)	130 (120;140)
Диастолно АН [медиана, (IQR)] DBP [median, (IQR)]	72 (65;79)	65 (60;72)	75 (70;80)	70 (65;75)	75 (68;78)	80 (75;90)
Хипертония, брой (%) Hypertension, n (%)	124 (70)	6 (25)	18 (86)	11 (46)	1 (10)	88 (89)
Захарен диабет, брой (%) Diabetes mellitus, n (%)	23 (13)	2 (8)	1 (5)	0	0	20 (20)
Коронарна ангиография, брой (%) Coronary angiography, n (%)	60 (34)	4 (17)	9 (43)	6 (25)	2 (20)	39 (39)
Аортна стеноза, брой (%) Aortic stenosis, n (%)	12 (7)	0	4 (19)	2 (9)	0	6 (6)
Изходно с пейсмейкър, брой (%) Pace-maker at baseline, n (%)	6 (3)	2 (8)	3 (14)	0	0	1 (1)
Пейсмейкър при проследяване, брой (%) Pace-maker at follow up, n (%)	NA	3 (13)	1 (5)	0	NA	NA
Изходно с предсърдно мъждене, брой (%) Atrial fibrillation at baseline, n (%)	28 (16)	8 (33)	8 (38)	2 (9)	0	10 (10)
Предсърдно мъждене при проследяване, брой (%) Atrial fibrillation at follow up, n (%)	NA	3 (13)	3 (14)	NA	NA	NA
Периферна полиневропатия, брой (%) PNP, n (%)	NA	24 (100)	1 (5)	NA	NA	NA

Таблица 1. Продължение  
Table 1. Continued

Клинични характеристики Clinical variables	Всички All	ATTRv	ATTRwt	AL	ХКМП HCM	Други Others
Синдром на карпалния тунел, брой (%) Carpal tunnel syndrome, n (%)	8 (4)	6 (25)	2 (10)	0	0	0
Спинална стеноза, брой (%) Spinal stenosis, n (%)	4 (2)	0	2 (19)	0	0	2 (5)
NYHA клас III, брой (%) NYHA class III, n (%)	108 (61)	8 (33)	20 (95)	20 (85)	3 (30)	57 (58)
NT-proBNP, pg/ml Медиана / Median (IQR)]	NA	3078 (2647; 7678)	1472 (791; 2556)	9710 (5135; 25229)	NA	NA
Смърт, брой (%) Death, n (%)	NA	1(4)	7 (33)	NA	NA	NA
Междукामерен септум, мм [медиана, (IQR)] Septum, mm [median, (IQR)]	16 (14;19)	19 (17;20)	15 (14;16)	16 (14;19)	19,5(16;22)	13,5(12;15)
Рестриктивно пълнене, брой (%) Restrictive filling, n (%)	48 (27)	12 (50)	11 (53)	17 (71)	1 (10)	7 (7)
ЛКФИ % [медиана, (IQR)] LVEF % [median, (IQR)]	60 (57;61)	57 (45;60)	60 (53;66)	55(42;59)	62 (54;68)	61 (55;64)

Данните са представени като средно ± стандартно отклонение или медиана и интерквартилен диапазон (IQR), или като брой и процент. AL – Артериално налягане, NYHA – New York Heart Association, NT-proBNP – N-терминален про-мозъчен натриуретичен пептид, ЛКФИ – левокамерна фракция на изтласкване;

Data are shown as n (%) or as median (IQR, interquartile range). SBP – systolic blood pressure, DBP – diastolic blood pressure, PNP – peripheral polyneuropathy, NYHA – New York Heart Association, NT-proBNP – N terminal pro-brain natriuretic peptide, LVEF - left ventricular ejection fraction



починали – 7 (33%) с ATTRwt-CM и 1 (4%) с ATTRv-CM, всички с напреднала СН. Четирима пациенти с див тип са починали преди започване на лечение с тафамидис, като при всички е налице некоригирана тежка аортна стеноза. Средната възраст на починалите пациенти с див тип е  $85 \pm 6$  години, а на една пациентка с вариантен тип е била на 66 год. При четирима пациенти – един с див тип и трима с вариантен тип е имплантиран постоянен ЕКС поради високостепенен AV блок. При трима пациенти с див тип и трима с вариантен тип се установи новопоявило се предсърдно мъждене. При 17 пациенти с ATTR-CM се изяви необходимост или от започване, или от повишаване на дозата на бримковия диуретик в амбулаторни условия, 7 пациенти бяха хоспитализирани с прояви на изострена СН, един пациент с асцит се нуждаеше от абдоминална парацентеза.

## Обсъждане

В този ръкопис представяме резултатите от изследователски проект, инициатива на Дружеството на кардиолозите в България (ДКБ) с основна цел да оценим честотата на ATTR-CM в България, както и да подпомогнем диагностицирането ѝ. Този проект подпомага също пациентите с AL амилоидоза да бъдат диагностицирани навреме, така че да могат да бъдат насочени бързо към хематолог за допълнителна оценка и специфично лечение. Доскоро медикаментозното лечение на пациентите с ATTR-CM беше ограничено до облекчаване на симптомите на СН с намаляване приема на натрий, бримкови диуретици в комбинация с алдостеронови антагонисти, както и лечение на ритъмни и проводни нарушения като предсърдно мъждене и AV блок [3, 4]. Във връзка с вече одобрената специфична терапия с тафамидис – стабилизатор на TTR и също така в очакване на потенциални нови възможности за лечение (други стабилизатори на TTR, медикаменти заглушаващи или редактиращи гена, моноклонални антитела) е още по-важно да се разпознае и диагностицира ATTR-CM рано, за да се подобри прогнозата на пациентите [9-14].

Имайки предвид данните от различни скринингови проучвания за по-висока честота на разпространение на ATTRwt-CM в сравнение с ATTRv-CM и AL-CM, броят на диагностицираните от нас пациенти с ATTRwt-CM е относително малък [15-17]. Възможно обяснение е, че изследването включва не само възрастни пациенти, които са таргетната група за дивия тип, а пациенти от всички възрастови групи над 18 год. Трябва да подчертаем, че наследствената ATTR-CM може да бъде открита и в късна възраст и това има значение за неговите родственици [18]. Най-възрастният пациент в това про-

and 1 (4%) with ATTRv-CM, all with advanced HF. Four patients died before the initiation of treatment with tafamidis, all with uncorrected severe aortic stenosis. The average age of death was  $85 \pm 6$  years. One female patient with variant type died at the age of 66 years with advanced HF. In four patients one with wild type and three with variant type a permanent pace-maker was implanted because of high degree AV block. Three patients with wild type and three with variant type developed new onset atrial fibrillation. Seventeen patients with ATTR-CM needed either initiation or an increase of the dose of loop diuretic in ambulatory settings, 7 patients were hospitalized for HF exacerbation, one patient with ascites needed abdominal paracentesis.

## DISCUSSION

In this manuscript we present the results from a research project, initiated by the Bulgarian Society of Cardiology (BSC) with the main objectives to evaluate the frequency of ATTR-CM in Bulgaria. The project was intended to support and increase diagnostic rate of ATTR-CM in patients with suspected cardiac amyloidosis. As an added value it could also help AL amyloidosis cases to be timely diagnosed so that they could be directly referred to a haematologist for evaluation and specific treatment. Until recently medical management of ATTR-CM has been limited to the alleviation of HF symptoms, including sodium restriction and loop diuretics in combination with aldosterone antagonists and also management of rhythm and conduction disturbances as atrial fibrillation and A-V block [3, 4]. Based on the already approved therapy with tafamidis – TTR stabilizer and also emerging potential novel opportunities for treatment (other TTR stabilizers, gene silencing compounds, gene editing, monoclonal antibodies) – it became even more important to recognize and diagnose ATTR-CM early in order to improve patient outcomes [9-14].

Considering the data from various screening studies, the number of ATTRwt-CM patients we have diagnosed was relatively small, compared to ATTRv-CM and AL-CM, may be because we included patients from all age groups and not only the very elderly, who are the target for wild type screening [15-17]. At the same time, the hereditary type can also be diagnosed at an advanced age, as the oldest diagnosed patient with ATTRv-CM in our study was 85 years old [18]. Another possible reason for the low number of ATTRwt-CM patients could be that the bone tracer routinely used in Bulgaria for bone scin-

учване е диагностициран на 85 год. Друга причина за относително по-малкия брой пациенти с ATTRwt-CM е, че рутинно използваният в България радиомаркер за костна сцинтиграфия е  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP – радиофармацевтик, който не е одобрен за диагностика на ATTR-CM.  $^{99m}\text{Tc}$ -PYP – радиомаркер, който използвахме в нашето проучване за диагностика на ATTR-CM, беше доставян след разрешение от регулаторните органи, тъй като не е наличен в отделенията по нуклеарна медицина. За целта на изследването беше необходимо пациентите да пътуват до София, което в известна степен затрудняваше техния достъп. Също така, съществува все още недостатъчна информираност за заболяването, въпреки усилията на ДКБ да представя редовно темата на научни и образователни срещи. По-често срещаните заболявания, причиняващи хипертрофия на ЛК, като артериална хипертония, аортна стеноза, хипертрофична кардиомиопатия, отвличат вниманието от възможността същите пациенти да имат ATTR-CM. Данни от различни проучвания сочат, че честотата на тежката аортна стеноза при възрастни пациенти насочени за TAVI е между 8 и 16% [19-21]. Проучването TTRACK при пациенти над 50 год с необяснима ЛК хипертрофия  $\geq 15$  mm установява ATTR-CM при 18% от изследваните пациенти посредством костна сцинтиграфия [22].

Една от причините за сравнително високия брой диагностицирани случаи на ATTRv-CM е наличието на ендемични региони в страната [23]. Пациентите с наследствена TTR амилоидоза в България се характеризират със смесен фенотип – сърдечен и неврологичен. Повечето от установените досега пациенти са били насочени от невролози, поради прояви на периферна полиневропатия и автономна дисфункция. Чрез тази скринингова програма бяха диагностицирани пациенти, насочени от кардиолози, с преобладаващи сърдечни прояви. Беше диагностициран нов вариант: p.Glu74Leu (Glu54Leu) в две несвързани семейства с преобладаващ сърдечен фенотип, който е много рядък в световен мащаб [24]. Преди нас е описан само в едно шведско семейство [25]. Диагнозата на това инвалидизиращо заболяване е от изключителна важност не само за пациентите с наследствен тип, но и за техните семейства. Генетичният скрининг на родственици в риск разкри патогенен вариант при 39 безсимптомни носители, които са включени в програма за проследяване от кардиолози и невролози за своевременно разпознаване началото на заболяването и започване на лечение.

Както се очакваше, диагностицираните пациенти с ATTRwt-CM са по-възрастни от тези с ATTRv-CM и мъжкият пол е преобладаващ. Всъщност всички пациенти, диагностицирани с ATTRwt, са мъже. Жените също могат да бъдат засегнати, но обикновено в по-напреднала възраст. Възможно обяснение

tigraphy is  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP, a radiopharmaceutical not approved for the diagnosis of ATTR-CM.  $^{99m}\text{Tc}$ -PYP, that we used for ATTR-CM diagnosis was being imported after a request and permission from the authorities and it is not available routinely for daily practice and is not available in the Nuclear medicine departments. The examination was performed only in Sofia, which made it difficult for patients from more distant regions of the country. Also, there is still a lack of awareness about the disease despite the efforts of the BSC to present the topic at cardiology congresses and other scientific and educational meetings. More common diseases, causing LV hypertrophy like arterial hypertension, aortic stenosis, hypertrophic cardiomyopathy distract from the possibility of the same patients having ATTR-CM. Data from various studies indicate that the incidence of severe aortic stenosis in adult patients referred for TAVI is between 8 and 16% [19-21]. The TTRACK study in patients over 50 years of age with unexplained LV hypertrophy  $\geq 15$  mm found ATTR-CM in 18% of the studied patients by means of bone scintigraphy [22].

One of the reasons for the relatively high number of diagnosed ATTRv-CM cases is that endemic regions for the disease exist in the country [23]. Patients with hereditary TTR amyloidosis in Bulgaria are characterized by a mixed phenotype – cardiac and neurological. Most of the patients identified so far were referred by neurologists, due to peripheral polyneuropathy manifestations and autonomic dysfunction. Patients referred by cardiologists with predominant cardiac signs and symptoms were diagnosed through this screening program. We have discovered a new variant – p.Glu74Leu (Glu54Leu) in two unrelated families with predominant cardiac manifestations. This variant is new for our country and very rare worldwide [24]. It has been described before us only in one Swedish family [25]. The diagnosis of this debilitating disease is of utmost importance not only for the patients with the hereditary type, but also for their families. The genetic screening of the relatives revealed a pathogenic variant in 39 asymptomatic carriers that were included in a follow up program by cardiologists and neurologists for timely recognition of disease onset and initiation of treatment.

As being expected the patients with ATTRwt-CM were older than the other types and the male sex was predominant. In fact, all the patients diagnosed

за липсата на диагностицирани пациенти от женски пол е по-рядкото насочване, с презумпцията, че жените са по-рядко засегнати. Друга възможна причина е жените имат по-слабо изразена ЛК хипертрофия, по-честа АХ в тази възраст, която може да маскира заболяването [26]. ATTRv-CM и AL-CM бяха установени както при мъже, така и при жени

Преобладаваща част от пациентите със сърдечна амилоидоза са диагностицирани в напреднал стадий на СН (клас III по NYHA) – около 80% от пациентите с ATTR-CM и AL-CM и около една трета от пациентите с ATTRv-CM. При последните този брой може да бъде подценен поради наличието на периферна полиневропатия, която инвалидизира пациентите и ги ограничава по отношение на физическата им активност, което маскира симптомите на СН. Най-високи нива на NT-proBNP бяха установени при пациентите с AL-CM, последвана от наследствения и дивия тип. Известно е, че при AL-CM има по-изразен токсичен ефект на амилоидогенния белтък върху миокарда в сравнение с ATTR-CM, което обяснява обичайно по-високите нива на сърдечни биомаркери (NT-prBNP, BNP, високочувствителен тропонин), по-тежката сърдечна систолна и диастолна дисфункция, дори при липса на значителна миокардна инфилтрация и по-лоша прогноза [27]. Характерно за биомаркерите при сърдечна амилоидоза е, че техните нива могат да бъдат непропорционално високи на степента на СН. Също така, те имат важно прогностично значение и се използват за стадирание на заболяването [28].

Аортната стеноза при пациентите с ATTRwt-CM не е рядка и е свързана с тежко протичане – при всичките 4 пациенти се наблюдава летален изход. Значителен брой пациенти с ATTR-CM имат имплантиран ЕКС, както и предсърно мъждене. Карпалният тунел е установен с по-голяма честота при наследствения тип, отколкото при дивия и не се открива при другите оценени пациенти. Спинална стеноза е открита при пациенти с див тип, но също и при двама пациенти без амилоидоза.

При пациентите с ATTR-CM беше установена значителна заболяемост и смъртност при проследяване. Тези резултати потвърждават лошата прогноза на самото заболяване, но също така се дължат до голяма степен и на късното диагностициране. Редица пациенти починаха от няколко дни до няколко месеца след поставяне на диагнозата, като някои от тях нямаша шанс за започване на лечение. Друга пречка за подобряване на прогнозата беше липсата на достъп до одобреното за ATTR-CM модифициращо болестта лечение [14]. Бяха установени недостатъци в процеса на диагностика и лечение на пациентите с AL-CM, което води до откриване им в напреднал стадий, което от своя страна води до неблагоприятен изход.

with the wild type were males. Females could also be affected, but usually at more advanced age. A possible explanation for not diagnosing female patients was the less frequent referral with the presumption that women are less commonly affected. Another possible reason is that women have less pronounced LV hypertrophy, more frequent hypertension, which may mask the disease [26]. ATTRv-CM and AL-CM were found in both males and females.

The majority of the patients presented at an advanced stage of HF (NYHA class III) - 80% of the patients with ATTR-CM and AL-CM and about one-third of patients with ATTRv-CM. In the latter, this number may be underestimated because of the presence of peripheral polyneuropathy, which disables the patients and restricts them from physical activity, which masks HF symptoms. The highest value of NT-proBNP was found in AL-CM, followed by variant and wild type. It is known that AL-CM is characterized with a more pronounced toxic effect of the amyloidogenic protein on the myocardium compared to ATTR-CM, which explains the higher levels of cardiac biomarkers (NT-prBNP, BNP, high-sensitivity troponin), the more severe cardiac systolic and diastolic dysfunction, even in the absence of significant myocardial infiltration and worse prognosis [27]. The levels of cardiac biomarkers could be disproportionately high to the degree of HF. Also, they have an important prognostic value and are used to stage the disease [28].

Aortic stenosis in ATTRwt-CM patients was associated with a more severe course of the disease, with all 4 patients having a fatal outcome. A significant number of patients with ATTR-CM received a pace-maker and atrial fibrillation was a common manifestation. Carpal tunnel was more common in variant type than wild type and was not found in the other evaluated patients. Spinal stenosis was found in wild type patients, but also in 2 patients without amyloidosis.

The patients with ATTR-CM demonstrated significant morbidity and mortality at follow up. This finding confirmed the poor prognosis of the disease itself, but also these unfavourable results were due to great extent to the late diagnosis. A number of patients died several days to several months from diagnosis, some of them having no chance for treatment initiation. Another obstacle for improved prognosis was the lack of access to the approved guideline directed treatment [14]. Gaps in the management of patient with AL-CM have been identified, resulting in the detection of patients at an advanced stage with an unfavourable outcome.

## Силни страни и ограничения

Основната силна страна на изследването е неговият проспективен дизайн и обхващащ пациенти от реалния живот от различни райони на страната. Диагностичният алгоритъм беше стриктно спазен. Има и ограничения: пациенти с вероятна ATTR-CM не бяха насочени поради лошо здраве и логистични затруднения, нежелание за по-нататъшно изследване и погрешна диагноза поради съпътстващи заболявания. Много е вероятно дивият тип да е подценен при женския пол. Не са представени резултатите от проследяване с ехокардиография и сърдечни биомаркери. Статистическият анализ не включва по-сложни статистически методи за оценка на променливите за статистическа значимост и корелации.

## Изводи

Това проучване представя първите данни за честотата и клиничните прояви при пациенти с ATTR-CM в България. Оформят се две таргетни групи, подлежащи на скрининг. Първите са възрастни пациенти, предимно мъже със СН, аортна стеноза, предсърдно мъждене, AV блок, синдром на карпалния канал, спинална стеноза. Втората група са пациенти с придружаващи периферна полиневропатия и автономна дисфункция, синдром на карпалния канал, фамилна анамнеза, произход от ендемичен район, като това е независимо от възрастта и пола. Потвърждавайки тежестта и неблагоприятната прогноза на заболяването е необходим нисък праг за скрининг, с цел ранна диагностика и навременно лечение.

**Благодарност:** Бихме искали да благодарим на всички колеги кардиолози, насочили пациенти за скрининг, за тяхната силна мотивация и състрадателна грижа към пациентите. Искаме да изразим нашата благодарност към пациентите и техните семейства за доверието и съдействието. Бихме искали да изразим и нашата признателност към ДКБ за отдадеността на изследванията в полза на пациентите.

*Не е деклариран конфликт на интереси*

## Библиография:/References:

1. Dobson, CM. Principles of protein folding, misfolding and aggregation. *Semin Cell Dev Biol.* 2004;15(1):3-16. doi: 10.1016/j.semcdb.2003.12.008.
2. Siddiqi OK, Ruberg FL. Cardiac amyloidosis: an update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Trends Cardiovasc Med.* 2018;28(1):10-21. doi: 10.1016/j.tcm.2017.07.004.
3. Falk, RH et al. AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis A Review of Diagnosis and Therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(12):1323-41. doi: 10.1016/j.jacc.2016.06.053.
4. Gonzalez-Lopez E. et al. Wild-type transthyretin amyloidosis as a cause of heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J.* 2015;36(38):2585-94. doi: 10.1093/eurheartj/ehv338.
5. Gillmore JD, Maurer MS, Falk RH, et al. Nonbiopsy diagnosis of cardiac transthyretin amyloidosis. *Circulation.* 2016;133(24):2404-12. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021612.

## Strengths and limitations

The main strength of the study is its prospective and nationwide design. The cohort is representative of real-life patients. The diagnostic algorithm was strictly followed. There are limitations: patients with possible ATTR-CM were not referred because of poor health and logistic difficulties, unwillingness for further investigation and misdiagnosis because of comorbidities, which led to underestimation of this condition. It is highly probable that the wild type is also underestimated in women. The results of echocardiographic measurements and cardiac biomarkers at follow up are missing. The statistical analysis does not include more sophisticated statistical methods for evaluation of the variables for statistical significance and correlations.

## CONCLUSION

This study presents the first data on the frequency and clinical manifestations in patients with ATTR-CM in Bulgaria. Two target groups to be screened for ATTR-CM have emerged. The first are elderly patients, predominantly males with heart failure, aortic stenosis, atrial fibrillation, A-V block, carpal tunnel syndrome, spinal stenosis. The second group are patients with concomitant peripheral polyneuropathy and autonomic dysfunction, family history, origin from an endemic region, regardless of age and sex. Confirming the severity and unfavourable prognosis of the disease, a low threshold for screening is needed for early diagnosis and timely treatment.

**Acknowledgement:** We would like to thank to all participating colleagues cardiologists for their strong motivation and compassionate care for their patients. We would like to express our acknowledgement to the patients and their families for the confidence and cooperation. We would like to express also our acknowledgement to BSC for the dedication on research in favour of the patients.

*No conflict of interest was declared*

6. Witteles, R, Bokhari, S, Damy, T. et al. Screening for Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy in Everyday Practice. *J Am Coll Cardiol HF.* 2019;7(8):709-716. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2019.04.010>
7. Perugini E, Guidalotti PL, Salvi F, et al. Noninvasive etiologic diagnosis of cardiac amyloidosis using 99Tc-3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(6):1076-84. doi: 10.1016/j.jacc.2005.05.073.
8. Gospodinova M, Kinova E, Simova I, et al. Diagnostic algorithm in transthyretin amyloidosis with cardiomyopathy. *Bulgarian Cardiology.* 2020;26:5-20, 10.3897/bgcardio.26.e53407.
9. Maurer M, Schwartz JH, Gundapaneni B, et al. Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2018;379(11):1007-1016. doi: 10.1056/NEJMoa1805689.

10. Gillmore JD, Judge DP., Cappelli F et al. Efficacy and Safety of Acoramidis in Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *NEJM*, 2024;390(2):132-142.
11. Adams D, Gonzalez-Duarte A, O’Riordan WD, et al. Patisiran, an RNAi therapeutic, for hereditary transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*. 2018;379(1):11-21. doi: 10.1056/NEJMoa1716153.
12. Solomon SD, Adams D, Kristen A, et al. Effects of patisiran, an RNA interference therapeutic, on cardiac parameters in patients with hereditary transthyretin-mediated amyloidosis: an analysis of the APOLLO study. *Circulation*. 2019;139(4):431-443.
13. Ando Y, Coelho T, Berk JL, et al. Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:31. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-8-31>.
14. McDonagh, TA et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*, 2021;42(36): 3599-3726, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>
15. Ruiz-Hueso R, Salamanca-Bautista P, Quesada-Simón MA, et al. Estimating the Prevalence of Cardiac Amyloidosis in Old Patients with Heart Failure-Barriers and Opportunities for Improvement: The PREVAMIC Study. *J Clin Med*. 2023;12(6):2273. doi: 10.3390/jcm12062273.
16. Lauppe RE, Liseth Hansen J, Gerdesköld C, et al. Nationwide prevalence and characteristics of transthyretin amyloid cardiomyopathy in Sweden. *Open Heart*. 2021;8(2):e001755. doi: 10.1136/openhrt-2021-001755.
17. Bampatsias D, Theodorakakou F, Briasoulis A, et al. Transthyretin amyloidosis cardiomyopathy in Greece: Clinical insights from the National Referral Center. *Hellenic J Cardiol*. 2023;S1109-9666(23)00190-2. doi: 10.1016/j.hjc.2023.09.019.
18. Maestro-Benedicto A, Vela P, de Frutos F, et al. Frequency of hereditary transthyretin amyloidosis among elderly patients with transthyretin cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2022;24(12):2367-2373. doi: 10.1002/ejhf.2658.
19. Nitsche C, Scully PR, Patel KP, et al. Prevalence and outcomes of concomitant aortic stenosis and cardiac amyloidosis. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77:128-139. doi: 10.1016/j.jacc.2020.11.006.
20. Dobner S, Pilgrim T, Hagemeyer D, et al. Amyloid Transthyretin Cardiomyopathy in Elderly Patients with Aortic Stenosis Undergoing Transcatheter Aortic Valve Implantation. *J Am Heart Assoc*. 2023;12(16):e030271. doi: 10.1161/JAHA.123.03027
21. Castaño A, Narotsky DL, Hamid N, et al. Unveiling transthyretin cardiac amyloidosis and its predictors among elderly patients with severe aortic stenosis undergoing transcatheter aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2017;38(38):2879-2887. doi: 10.1093/eurheartj/ehx350.
22. Garcia-Pavia P, Damy T, R Barriales-Villa, N. Transthyretin amyloid cardiomyopathy among patients with hypertrophic cardiomyopathy: clinical, cardiac imaging, and electrocardiographic findings from the TTRACK study. *Eur Heart J*, 2023;44(Suppl. 2):ehad655.852.
23. Chamova T, Gospodinova M, Asenov O. et al. Seven Years of Selective Genetic Screening Program and Follow-Up of Asymptomatic Carriers with Hereditary Transthyretin Amyloidosis in Bulgaria. *Front Neurol*. 2022;13:844595. doi:10.3389/fneur.2022.844595
24. Gospodinova M, Zhelyazkova S, Chamova T, et al. Case Report: Transthyretin Glu54Leu-a rare mutation with predominant cardiac phenotype. *Front Cardiovasc Med*. 2023 Oct 31;10:1228410. doi: 10.3389/fcvm.2023.1228410.
25. Hellman U, Lång K, Ihse E, et al. Transthyretin Glu54Leu - an unknown mutation within the Swedish population associated with amyloid cardiomyopathy and a unique fibril type. *Scand J Clin Lab Invest*. 2019;79(6):372-376. doi:10.1080/00365513.2019.1624977
26. Takashio S, Yamada T, Nishi M, et al. Sex-related differences in the clinical characteristics of wild-type transthyretin amyloidosis cardiomyopathy. *J Cardiol*. 2022 Jan;79(1):50-57. doi: 10.1016/j.jjcc.2021.10.007. Epub 2021 Oct 29. PMID: 34756766.
27. Witteles, R, Liedtke, M. AL Amyloidosis for the Cardiologist and Oncologist: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *J Am Coll Cardiol CardioOnc*. 2019 Sep, 1 (1) 117–130. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.08.002>
28. Gillmore JD, Damy T, Fontana M, et al. A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J*. 2018 Aug 7;39(30):2799-2806. doi: 10.1093/eurheartj/ehx589.