

Facciamo il punto su: l'Amiodarone, indicazioni, limiti e pericoli

A cura di Achille Giardina e Mauro Pisano

L'Amiodarone (A), oltre ad una superiore efficacia nei confronti degli altri farmaci antiaritmici, può vantare due proprietà eccezionali: minimo effetto inotropo negativo e frequenza di effetti proaritmici molto bassa.

Potrebbe essere l'antiaritmico ideale ma, come una potente droga, possiede un lato oscuro: quello dei **gravi effetti collaterali multisistemici** e della dimostrata inefficacia nella prevenzione (primaria e secondaria) della morte improvvisa.

Tutto ebbe inizio con:

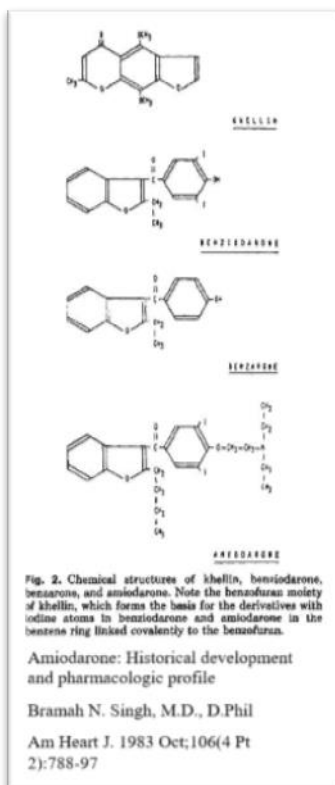
AMMI VISNAGA IN THE TREATMENT OF THE ANGINAL SYNDROME

BY G. V. ANREP, G. S. BARSOUM, M. R. KENAWY, AND G. MISRAHY

From the Physiological Laboratory and the University Hospital, Cairo, Egypt

Received August 28, 1945 - Br Heart J 1946 (1)

La pubblicazione dell'articolo suscitò l'interesse delle industrie farmaceutiche europee che si impegnarono a sviluppare un farmaco coronarodilatatore derivato dal principio madre Kellina.



Nel 1962 i chimici Tondeur e Binon, dell'industria belga Labaz, manipolando la molecola kellina, giunsero alla sintesi della molecola di Amiodarone: *Recherches dans la serie des benzofurannes. VII. Etude pharmacologique preliminaire du butyl-2(diiodo-3',5'-B-N-diethylaminoethoxy-4' benzoly)-3 benzofuranne.*

Arch Int Pharmacodyn 139:255, 1962

Nel 1967 apparve la prima segnalazione come farmaco antianginoso.

A partire da queste evidenze l'Amiodarone divenne progressivamente popolare in Europa ed in Sud America come farmaco coronarodilatatore per il trattamento dell'angina pectoris.

Nel 1970 Singh e Vaughan Williams ne scoprirono l'effetto diretto sui tessuti miocardici.

La prima evidenza sperimentale sull'effetto antiaritmico dell'Amiodarone venne pubblicata nel 1970, (*Van Schepdael J, Solvay H: Etude clinique de l'amiodarone dans les troubles du rythme cardiaque. Presse Med 78:1849,1970*) ma **l'affermazione dell'amiodarone come antiaritmico si deve alle osservazioni del**

grande Cardiologo argentino Mauricio Rosembaum che pubblicò nel 1975 un articolo dal titolo *Control of tachyarrhythmias associated with Wolff-Parkinson-White syndrome by amiodarone hydrochloride.* L'anno successivo Rosembaum pubblicò un secondo articolo che estendeva l'uso

dell'Amiodarone per il trattamento delle aritmie sopraventricolari e della tachicardia ventricolare. (2)

Il farmaco suscitò l'interesse di molti giovani Cardiologi USA che iniziarono ad utilizzarlo per il trattamento delle più gravi aritmie ventricolari confermandone la straordinaria efficacia ma, al contempo, rilevando e segnalando la comparsa di seri effetti collaterali.

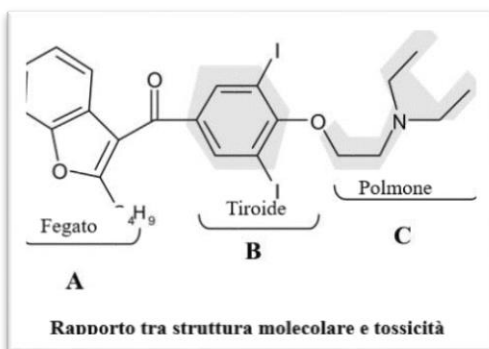
La diffusione dell'Amiodarone negli Stati Uniti avvenne in modo affatto singolare: i Medici importavano il farmaco dal Canada e dall'Europa, la cui somministrazione era concessa da FDA esclusivamente per uso compassionevole in pazienti con gravi aritmie ventricolari refrattarie a tutti gli altri trattamenti farmacologici. Nel giro di pochi anni più di diecimila pazienti assumevano il farmaco importato, fino a che FDA, stante il rischio della cessazione delle forniture da parte dell'Azienda produttrice, non fu costretta ad approvare il 24/12/1985 il farmaco esclusivamente per l'uso nel trattamento delle aritmie ventricolari maligne, pur senza il supporto di studi clinici di efficacia e nella consapevolezza della sua tossicità. (3)

Naccarelli nel 1986 presentò un dettagliato resoconto sulle *adverse drug reaction* causate dall'Amiodarone, classificando gli effetti tossici in oftalmici, dermatologici, gastrointestinali, tiroidei, cardiovascolari, neurologici, teratogenici, epatici e polmonari. (Naccarelli, G.V., Rinkenberger, R.L., Dougherty, A.H. and Fitzgerald, D.M. (1989) *Adverse Effects of Amiodarone Medical Toxicology and Adverse Drug Experience*, 4, 246-253). (4)

Metabolismo dell'Amiodarone

L'Amiodarone, nel processo di metabolizzazione, viene inizialmente de-alchilato con formazione di mono-N-des-etil-amiodarone (MDEA), principale metabolita dotato di azione antiaritmica tendente ad accumularsi nei tessuti, con emivita simile a quella dell'Amiodarone ma ancora più tossico. MDEA viene de-alchilato con formazione di N-des-etil-amiodarone (DDEA), il quale viene successivamente deaminato ad amiodarone-EtOH (B2-O-EtOH) e quindi idrossilato ad n-idrossibutil-N-des-etil-amiodarone.

Rapporto tra struttura chimica e tossicità



A) L'epatotossicità della porzione benzofuranica dipende dalla presenza delle catene laterali in posizione 1 e/o 2 dell'anello furanico. (5)

B) In considerazione della loro somiglianza agli ormoni tiroidei, l'Amiodarone e il suo principale metabolita il MDEA possono legarsi al recettore degli ormoni tiroidei. La dose giornaliera di amiodarone (200 mg/die) espone il paziente ad un carico iodico di circa 75 mg/die, di gran lunga superiore alla dose di iodio giornaliera consigliata da OMS (100-200 µg). (6)

Last but not least l'Amiodarone e il MDEA hanno un effetto citotossico e pro-apoptotico diretto sulle cellule follicolari della tiroide. (7)

C) L'azoto dietilmetossilico è la porzione della molecola dell'Amiodarone che esercita l'azione tossica nei confronti dei macrofagi alveolari. Il massimo degli effetti tossici sperimentali si ottiene con le molecole (Amiodarone, MDEA e DDEA) caratterizzate dal gruppo dietilmetossilico, mentre i

metaboliti successivi dealchilati e deaminati, perdono rapidamente gli effetti nocivi nei confronti dei macrofagi alveolari. (8)

Meccanismi ionici d'azione: il mio nome è complessità

L'Amiodarone è stato inizialmente classificato come antiaritmico di classe III, tuttavia esibisce caratteristiche farmacologiche da antiaritmico di I, II e IV classe agendo sulle correnti del calcio, del sodio e del potassio.

Sperimentalmente è stato dimostrato che Amiodarone presenta una maggiore selettività nei confronti dell'inibizione dei canali del sodio atriali rispetto a quelli ventricolari. Questa selettività di Amiodarone per il blocco dei canali del sodio atriali contribuisce a spiegare la sua efficacia nel trattamento della fibrillazione atriale con minimo effetto sulla contrattilità ventricolare. (9)

L'Amiodarone, diversamente dal sotalolo (puro agente di III classe), non prolunga solamente il potenziale d'azione (PDA) ma è anche in grado di provocare una refrattarietà in fase di post-depolarizzazione garantendo un minor rischio di torsione di punta. (10)

L'Amiodarone agisce con diverse modalità d'azione nella fase acuta e nella fase cronica. (11)

Nella fase acuta, Amiodarone agisce sui canali d'ingresso del Sodio e del Calcio provocando un'inibizione uso e frequenza dipendente del potenziale d'azione. Il blocco riguarda anche i canali ionotropici (Ligand Gated) e voltaggio dipendenti del potassio. L'effetto è quello di una riduzione dell'eccitabilità e della conducibilità alle frequenze più alte ed in condizioni di minor negatività del potenziale di riposo. La fase di ripolarizzazione del potenziale d'azione non viene modificata.

Nella fase cronica, mediata anche dal suo metabolita attivo desetilamiodarone, Amiodarone agisce prolungando omogeneamente il PDA ed il periodo refrattario effettivo sia in atrio che in ventricolo. Il prolungamento del PDA è attribuito ad una riduzione della densità dei recettori dei canali ($I_{kr} - I_{to}$) del potassio, mentre la loro caratteristica di voltaggio dipendenza rimane immutata. La riduzione della densità recettoriale sembra sia dovuta alla modulazione dell'espressione dei geni dei canali del potassio, dimostrata dalla *down regulation* del Kv-1.5 mRNA. L'inibizione della densità di corrente del calcio (I_{ca}) evita l'eccessivo prolungamento del PDA.

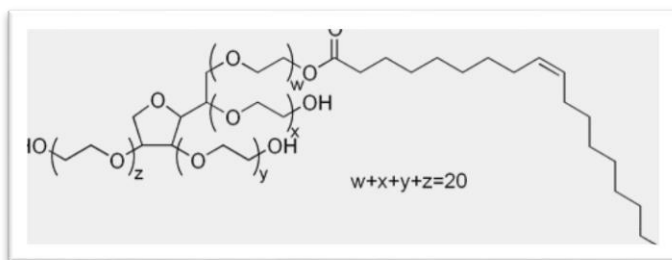
Effetti elettrofisiologici

Gli effetti elettrofisiologici dell'Amiodarone somministrato per via endovenosa (ev), durante la stimolazione endocavitaria programmata del cuore (SEFI), presentano importanti differenze rispetto quelli rilevati dopo il "carico" orale (5-6 settimane) del farmaco. Solo l'Amiodarone orale prolunga il periodo refrattario effettivo (PRE) dell'atrio, del ventricolo e dell'intervallo HV. Solo l'Amiodarone ev prolunga l'intervallo AH. Entrambi allungano il PRE del nodo atrio ventricolare. Nella S. di Wolff-Parkinson-White l'Amiodarone orale allunga maggiormente, rispetto a quando somministrato ev, sia il PRE della via accessoria anterograda che il ciclo della tachicardia. (12)

Amiodarone endovenoso: ovvero come infondere una molecola non idrosolubile

L'Amiodarone è una molecola anfipatica che si accumula nell'ambiente del doppio strato lipidico delle membrane cellulari. La "soluzione" alla compatibilità con l'ambiente acquoso è il Polisorbato 80 (Tween 80) un surfattante/emulsionante non ionico in grado di stabilizzare la soluzione acquosa

di Amiodarone. Ogni millilitro di Amiodarone ev contiene 50 mg di A HCL, 20.2 mg di alcol benzilico (batteriostatico) e 100 mg di polisorbato 80 ed acqua per iniezioni (80%).



Effetti secondari dell'infusione di Polisorbato 80

Il Polisorbato 80, oltre ad un effetto ipotensivo, esercita effetti elettrofisiologici negativi sul nodo seno atriale e sul nodo atrio ventricolare. (13)

L'Amiodarone ev è classificato tra i farmaci vescicanti. (14)

La somministrazione endovenosa richiede lo scrupoloso rispetto delle modalità di somministrazione e la massima attenzione per l'eventuale manifestazione di reazioni avverse.

Sostenibilità della terapia con Amiodarone

Nel caso della somministrazione endovenosa, il naturale limite temporale di somministrazione, associato alla mancanza dell'effetto di accumulo nell'organismo e le differenze elettrofisiologiche rispetto alla formulazione per via orale, fanno sì che debba essere valutata solo la sua efficacia come farmaco per le urgenze aritmiche.

Nel caso della terapia orale, Amiodarone è stato utilizzato in trattamenti a lunga scadenza nel campo della prevenzione primaria e secondaria della morte improvvisa ed in alternativa all'ablazione della tachicardia ventricolare nei portatori di AICD. (15)

Prevenzione secondaria della morte improvvisa

CASCADE (1993) *Cardiac Arrest Study in Seattle: Conventional Versus Amiodarone Drug Evaluation*, tra i sopravvissuti ad un arresto cardiaco (228) Il trattamento empirico con Amiodarone (113) rispetto alla terapia antiaritmica convenzionale (115) guidata da studio elettrofisiologico o ECG Holter, riduceva le ricorrenze aritmiche senza ridurre le morti aritmiche.

AVID, CIDS e CASH hanno tutti dimostrato la superiorità del defibrillatore automatico (AICD) nel ridurre la mortalità globale dei pazienti rispetto all'Amiodarone.

Risultati di un Follow-up a lungo termine

*Long-Term Comparison of the Implantable Cardioverter Defibrillator Versus Amiodarone. Eleven-Year Follow-Up of a Subset of Patients in the Canadian Implantable Defibrillator Study (CIDS). Fayez Bokhari, David Newman, Mary Greene, Victoria Korley, Iqwal Mangat, Paul Dorian. St Michael's Hospital Toronto. **Circulation. 2004; 110:112-116.***

Nello studio sono stati arruolati 120 Pazienti (Ospedale St Michael's), assegnati in modo casuale a ricevere Amiodarone ($n = 60$) o un ICD ($n = 60$). La strategia di trattamento non è stata modificata a meno che la terapia assegnata inizialmente fosse inefficace o per gravi effetti collaterali. Dopo un follow-up medio di $5,6 \pm 2,6$ anni, si sono verificati 28 decessi (47%) nel gruppo trattato con Amiodarone, rispetto a 16 decessi (27%) nel gruppo ICD ($P = 0,0213$). La mortalità totale è stata del 5,5% annuo nel gruppo trattato con Amiodarone rispetto al 2,8% all'anno nel gruppo ICD ($P =$

0,0261). Nel gruppo trattato con Amiodarone, 49 pazienti (82% di tutti i pazienti) **hanno avuto effetti collaterali correlati all'Amiodarone**, di cui 30 pazienti (50% di tutti i pazienti) hanno richiesto l'interruzione o la riduzione della dose; 19 pazienti sono passati a ICD a causa di insufficienza di Amiodarone (n = 7) o effetti collaterali (n = 12). (16)

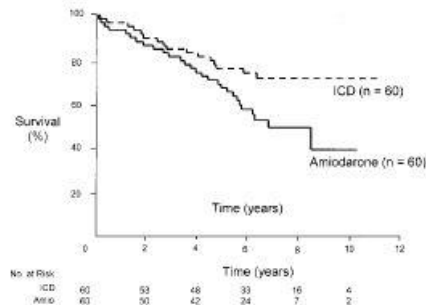
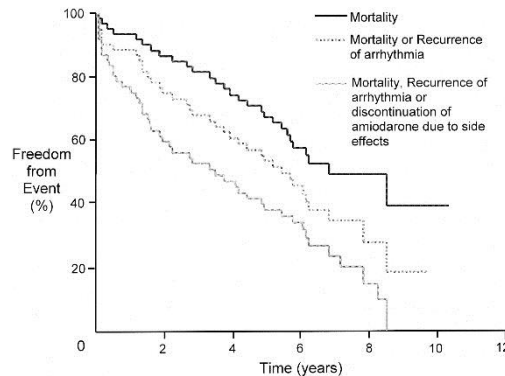


Figure 1. Kaplan-Meier plot depicting cumulative risk of death from any cause on basis of the intention-to-treat principle in the patients assigned to ICD and amiodarone treatment. Time=0 refers to the date of randomization in the main CIDS study. Hazard ratio (HR) of ICD versus amiodarone therapy, 2.01 (1.08 to 3.72); P=0.0231.



Prevenzione primaria della morte improvvisa

European Myocardial Infarct Amiodarone Trial. EMIAT (1997), Randomised trial of effect of amiodarone on mortality in patients with left-ventricular dysfunction after recent myocardial infarction. Obiettivo: valutare l'efficacia di Amiodarone sulla mortalità nei pazienti con ridotta frazione d'eiezione dopo un recente infarto. Arruolamento 1.486 pazienti (gruppo A 743 pazienti). Follow-up medio 21 mesi. Endpoint primario mortalità per tutte le cause (103 gruppo AMD – 102 nel gruppo placebo). Nessuna differenza tra i due gruppi. (17)

Canadian Amiodarone Myocardial infarction Trial CAMIAT (1997), Randomised trial of outcome after myocardial infarction in patients with frequent or repetitive ventricular premature depolarisations. Obiettivo: verificare (a tutti i costi statistici?) l'ipotesi della efficacia dell'Amiodarone nel ridurre la morte aritmica tra i p. con un recente (6-45 g.) infarto del miocardio con frequenti (>10/ora) battiti ectopici ventricolari o TVNS all'analisi Holter. Arruolamento 1.202 p. (gruppo A 606). Follow-up medio 1.79 anni. Riduzione significativa dell'endpoint primario composto di morte aritmica e FV resuscitata: nell'analisi *intention to treat* riduzione significativa (p=0.029) del rischio relativo (38.2%), dal 6.9% nel gruppo placebo al 4.5% nel gruppo A. L'outcome secondario (morte aritmica, morte cardiaca e mortalità per tutte le cause) evidenzia una progressiva riduzione della significatività statistica con riduzione del valore p: 0.097 per la morte aritmica (cosa la differenza dall'end point primario?), 0.187 nel caso della mortalità cardiaca e 0.129 nel caso di tutte le cause di mortalità. (18)

Il commento editoriale di Stephen S. Gottlieb su EMIAT e CAMIAT (Lancet 1997) **Dead is dead artificial definitions are not substitutes** è (19) chiarissimo.

Amiodarone vis a vis con il defibrillatore automatico impiantabile nello studio SCD-HeFT non ha dimostrato alcun beneficio di sopravvivenza.

Amiodarone or an Implantable Cardioverter–Defibrillator for Congestive Heart Failure (2005). Lo studio è stato sponsorizzato e supervisionato dal *National Heart, Lung, and Blood Institute*, con l'obiettivo di valutare l'ipotesi se Amiodarone o AICD (monocamerale *shock only*) fossero in grado di ridurre, (utilizzata l'analisi statistica *intention-to-treat*) il rischio di morte per tutte le cause rispetto alla terapia ottimizzata in p. con insufficienza cardiaca, II - III classe NYHA e frazione d'eiezione del ventricolo sinistro (FEVS) $\leq 35\%$. Arruolamento 2.521 pazienti con assegnazione randomizzata: 847 al gruppo placebo, 845 al gruppo A e 829 al gruppo ICD. Follow up medio (40.8 mesi) di straordinaria lunghezza. Età media 60.1 anni, 77% maschi, 52% insufficienza cardiaca ischemica, 48% non ischemica, 70% in classe NYHA II, 30% in classe III e la FEVS mediana 25%. **Terapia medica ottimale:** lo studio fu concepito come uno **sforzo collaborativo ed organizzativo** tra elettrofisiologi e specialisti dello scompenso cardiaco, volto a mantenere un elevato rigore metodologico ed a garantire la stretta aderenza alle linee guide della terapia medica. Endpoint primario: riduzione significativa della mortalità per tutte le cause nei confronti di Amiodarone e placebo. Completamente priva di beneficio la terapia con Amiodarone.

Un altro punto di forza dello SCD-HeF sono state le analisi secondarie per mortalità globale basate su sottogruppi statistici prespecificati: insufficienza ischemica – insufficienza non ischemica e II classe NYHA – III classe NYHA.

L'Amiodarone è risultato associato ad una prognosi statisticamente peggiore del placebo nei Pazienti in classe NYHA III. (20)

Profilassi secondaria della tachicardia ventricolare nei portatori di AICD

*Comparison of β -Blockers, Amiodarone Plus β -Blockers, or Sotalol for Prevention of Shocks From Implantable Cardioverter Defibrillators. The **OPTIC Study: A Randomized Trial**. Stuart J. Connolly, MD; Paul Dorian, MD; Robin S. Roberts, MTEch; et al.*

Studio randomizzato con aggiudicazione in cieco degli eventi di 412 pazienti da 39 centri (Canada, Germania, Stati Uniti, Inghilterra, Svezia e Austria), condotto dal 13 gennaio 2001 al 28 settembre 2004. I Pazienti erano eleggibili se avevano ricevuto un ICD entro 21 giorni dalla tachicardia/fibrillazione ventricolare inducibile o spontanea.

Nei pazienti portatori di ICD in prevenzione secondaria in trattamento con β -bloccante, gli shock si verificano comunemente nel primo anno dopo l'impianto di ICD. L'Amiodarone più beta-bloccante è efficace per prevenire questi shock ed è più efficace del sotalolo ma ha un aumentato rischio di effetti collaterali. Nel gruppo A + β -bloccante si sono verificati i più alti tassi di effetti collaterali polmonari (7 casi), tiroidei (6 ipotiroidismo e 2 ipertiroidismo), cutanei (4 casi) ed otto casi di bradicardia sintomatica.

Ventricular Tachycardia Ablation versus Escalation of Antiarrhythmic Drugs

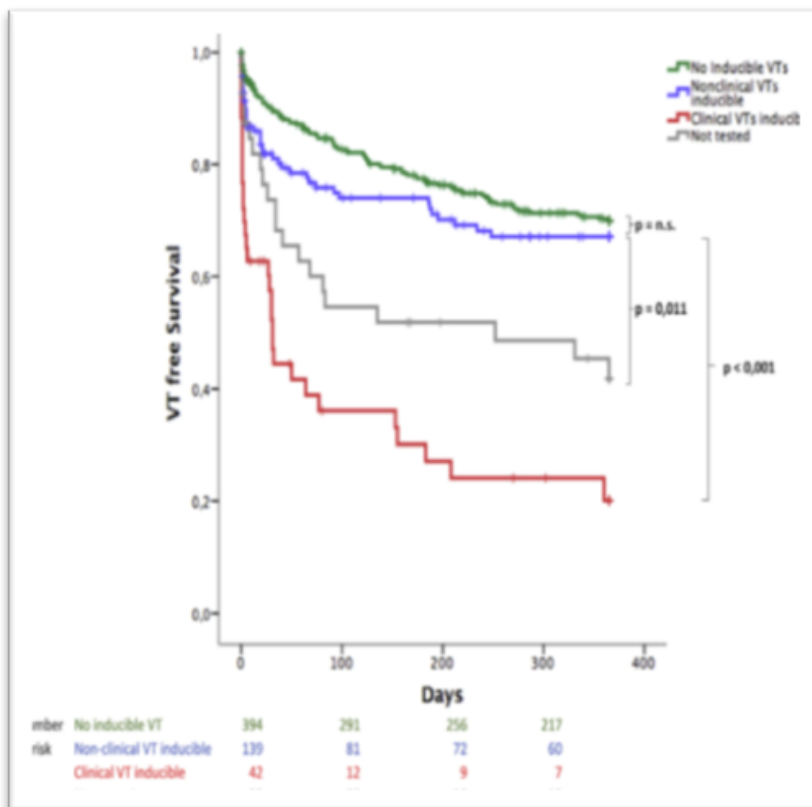
In sintesi i risultati dello studio **VANISH** possono essere così riassunti: nei pazienti con cardiomiopatia ischemica portatori di ICD con episodi di tachicardia ventricolare nonostante la terapia antiaritmica, si verificava una percentuale significativamente inferiore dell'outcome primario composito (morte, tempesta aritmica di tachicardia ventricolare, shock appropriato di ICD)

tra pazienti sottoposti a ablazione con catetere rispetto a quelli che ricevevano una *escalation* della terapia farmacologica antiaritmica. (21)

In una meta-analisi dei dati della letteratura (Santangeli, Heart Rhythm, 2016) sono stati selezionati 14 *trials*, comprendenti 8 studi sui farmaci antiaritmici (2.268 p. follow-up 15± 6 mesi) e 6 studi (427 p, follow-up 14 ± 8 mesi) sull'ablazione. Si è rilevata la riduzione significativa degli interventi ICD appropriati con entrambe le strategie terapeutiche. Farmaci antiaritmici (odds ratio [OR] 0,45,95% intervallo di confidenza [CI] 0,28-0,71, P 0.001), ablazione transcatetere (OR 0,66,95% CI 0,44-0,97, P 0,37), senza differenze significative tra le due strategie di trattamento. Il vantaggio nel gruppo farmaci antiaritmici era dovuto all'Amiodarone ma non con gli altri farmaci. La riduzione degli interventi AICD inappropriati si è verificata con i farmaci antiaritmici (OR 0.30, P= 0.001) ma non con l'ablazione. Entrambi i gruppi non sono risultati essere associati ad una diminuzione della mortalità e l'Amiodarone sembra aumentare il rischio di morte (OR 3.36,95% CI 1.36-8.30, P= 0.009). (22)

Trattamento delle tempeste aritmiche nei portatori di AICD

The International VT Ablation Center Collaborative Group (IVTCC) ha compreso dodici centri internazionali specializzati nella gestione TV, che hanno condiviso un protocollo comune ed il *data sharing* delle caratteristiche cliniche e procedurali, delle recidive di TV e dei tassi di mortalità tra 1940 pazienti sottoposti ad ablazione, confrontando Pazienti con/senza *storm* elettrico.



Il gruppo di pazienti con tempesta aritmica (677 pazienti) era caratterizzato da un'età più avanzata, dalla prevalenza del sesso maschile, da una frazione di eiezione inferiore, da un'insufficienza cardiaca avanzata e da una maggiore prevalenza di malattie cardiovascolari. Nel gruppo tempesta aritmica (SA) il numero delle comorbidity, rispetto a quelli senza tempesta aritmica, era maggiore (86,1% dei pazienti con SA avevano 2 comorbidity vs 71,4% tra i pazienti senza *storm* elettrico; P .001). I Pazienti con SA avevano più TV inducibili (2,5 6 1,8 vs 1,9 6 1,9; P.001) ed erano sottoposti a procedure più

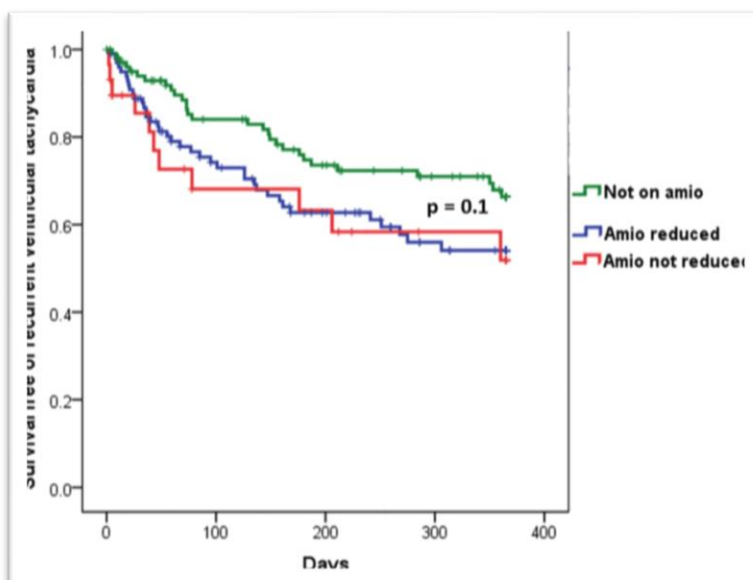
lunghe (296,1 6 119,1 minuti vs 265,7 6 110,3 minuti; P.001) ed una mortalità ospedaliera più alta (42 morti [6,2%] vs 18 morti [1,4%], P, 0,001). A 1 anno di follow-up, i pazienti con SA hanno presentato un rischio più elevato di recidiva della TV e di mortalità (32,1% vs 22,6% e 20,1% vs 8,5%; P .001 per entrambi). **Tra i pazienti con SA, quelli senza che fosse possibile indurre alcuna TV dopo l'ablazione ha avuto un più alto tasso di sopravvivenza (86,3%) rispetto a quelli con TV non cliniche**

inducibili (72,9%), quelli con TV cliniche indotte con stimolazione elettrica programmata (51,2%) ed i Pazienti non testati (65,0%) (long-rank, P, .001 per tutti).

Nell'analisi multivariata, lo SA è risultato essere l'unico predittore indipendente di mortalità intra-ospedaliera, recidiva della TV e mortalità ad 1 anno (p, .001). (23)

Può esistere un ruolo per l'Amiodarone come "destination therapy"?

L'analisi retrospettiva interna a coorte, condotta dal gruppo di Filadelfia sulla riduzione o interruzione dell'Amiodarone dopo l'ablazione della tachicardia ventricolare in pazienti con cardiopatia strutturale offre un interessante spunto di riflessione. L'articolo, comparso su *JACC Clinical Electrophysiology* nel 2017 (primo autore Jackson J. Liang), presenta i dati sui P. consecutivamente sottoposti ad ablazione della tachicardia ventricolare dal 2008 al 2011. I P. erano suddivisi in 3 gruppi per il diverso uso di Amiodarone: gruppo A-Amiodarone ridotto/interrotto dopo ablazione; gruppo B-Amiodarone non ridotto; gruppo C-non Amiodarone al momento dell'ablazione. Le caratteristiche dei P. ed i risultati sono stati confrontati tra i gruppi. La casistica comprendeva 231 pazienti (90% maschi, età media: 63,4 ± 12,9 anni, 53,7%, cardiomiopatia ischemica) (gruppo A: 99, gruppo B: 29, gruppo C: 103). I pazienti del gruppo B erano più anziani con insufficienza cardiaca più avanzata. Nel gruppo A i P. avevano meno frequentemente una TV inducibile alla fine dell'ablazione o alla stimolazione programmata non invasiva eseguita secondo protocollo in pre-dimissione. Nel follow-up, La sopravvivenza libera da TV ad un anno era simile tra i gruppi (p = 0,10). La mortalità era più alta nel gruppo B (p <0,001). Un più alto dosaggio di Amiodarone post ablazione (hazard ratio: 1,23, intervallo di confidenza al 95%: 1,03-1,47; p = 0,02) è risultato indipendentemente associato a un tempo di morte più breve.



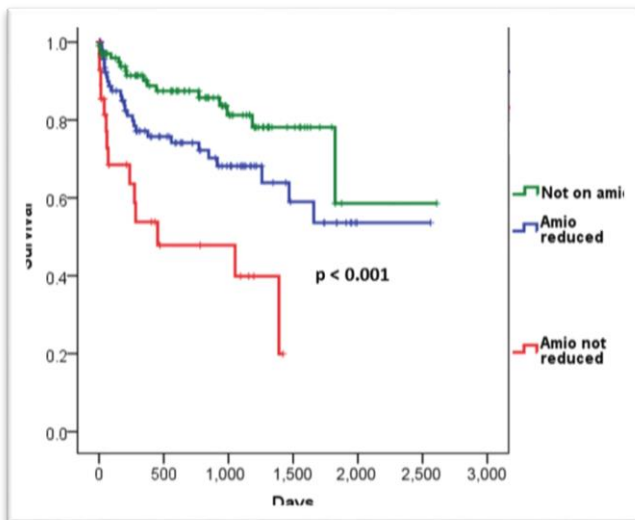
J Am Coll Cardiol EP 2017-Amiodarone Reduction After VT Ablation. Liang et al.

Survival Free of Recurrent VT Following Ablation One-year survival free of recurrent ventricular tachycardia (VT) did not differ between amiodarone (amio) groups (log-rank p = 0.1).

I Pazienti in trattamento con Amiodarone (gruppi A e B) al momento dell'ablazione erano più avanti negli anni di quelli non trattati con Amiodarone. Inoltre, questi pazienti tendevano ad avere un'insufficienza cardiaca avanzata con frazione d'eiezione inferiore, dosaggio diuretici maggiorato, essere portatori di ICD e di CRT-D. Però, nonostante il fatto che i pazienti fossero "più malati",

probabilmente con substrato di aritmia più avanzato, la riduzione delle dosi di Amiodarone del gruppo A era stata possibile senza un aumento inaccettabile della ricorrenza della TV, rispetto ai pazienti più giovani del gruppo C.

Nell'analisi multivariata, inoltre, una più alta dose di Amiodarone alla dimissione ospedaliera era associata ad una più alta mortalità.



Those who were on amiodarone before ablation and did not have their dose reduced or discontinued afterward (group B) had worse long-term survival following VT ablation than those whose amiodarone dose was decreased or discontinued (group A) and those who were not on amiodarone at time of ablation (group C, log-rank $p < 0.001$). Abbreviations as in Figure 1. J Am Coll Cardiol EP 2017-Amiodarone Reduction After VT Ablation. Liang et al.

Dopo l'ablazione della TV, verificata dalla non inducibilità alla fine dell'ablazione e dalla stimolazione programmata non invasiva predimissione, l'Amiodarone può essere tranquillamente ridotto/interrotto senza un aumento inaccettabile di Ricorrenza TV. **La riduzione/interruzione di Amiodarone deve essere considerata come uno degli obiettivi più importanti dell'ablazione della tachicardia ventricolare.** (24)

Tossicità multisistemica dell'Amiodarone

A causa della sua rilevante tossicità extracardiaca la terapia con Amiodarone comporta molteplici effetti collaterali.

Gli effetti indesiderati più gravi sono: la fibrosi polmonare, la disfunzione tiroidea ed il danno epatico. La neuropatia ottica e la cecità, pur nella loro gravità, sono complicazioni eccezionali.

Tossicità polmonare

La tossicità polmonare è una delle principali cause di interruzione del trattamento con Amiodarone, ha un'incidenza stimata tra il 5 e il 13% e **rappresenta la reazione avversa più grave che limita l'efficacia clinica di questo farmaco.** La tossicità polmonare indotta da Amiodarone può verificarsi in modo acuto (ipersensibilità polmonare acuta) o può manifestarsi cronicamente con una fibrosi polmonare. L'incidenza della tossicità polmonare può verificarsi con qualsiasi dose, sebbene si sia ridotta con l'uso delle dosi più basse del farmaco.

Sono stati suggeriti tre diversi meccanismi di tossicità polmonare: un effetto tossico diretto, un meccanismo immuno-mediato e l'attivazione del sistema enzimatico dell'angiotensina.

Le concentrazioni di Amiodarone nel parenchima polmonare superano significativamente quelle presenti nel cuore ed il suo principale metabolita (MDEA) supera le sue concentrazioni. Amiodarone e MDEA si depositano, sia in forma di complessi farmaco-fosfolipidi, sia interagendo direttamente il doppio strato fosfolipidico cellulare.

Il meccanismo del danno cellulare sembra sia dovuto ad un danno mitocondriale. (25)

Il sistema enzimatico dell'angiotensina può contribuire alla patogenesi della tossicità polmonare: un'analisi retrospettiva ha rilevato una maggiore prevalenza del danno polmonare dovuto all'Amiodarone tra i Pazienti che non assumevano un inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina od un bloccante del recettore dell'angiotensina. In un altro studio, ripetuti episodi di insufficienza cardiaca (associati all'aumento dei livelli di angiotensina II) sembravano aumentare il rischio di tossicità polmonare da Amiodarone.

Una reazione immunologica alla base della fibrosi polmonare è suggerita dal riscontro in diversi pazienti reperti suggestivi di una reazione da ipersensibilità: infiltrazione linfocitaria, presenza di linfociti CD8+ e positività all'immunofluorescenza IgG.

La mortalità varia dal 9% per coloro che sviluppano polmonite cronica al 50% per coloro che sviluppano ARDS.

Il coinvolgimento polmonare si divide in due categorie significatività clinica: la polmonite lipoide, il cosiddetto "effetto amiodarone", che solitamente è asintomatico e la vera e propria tossicità da amiodarone.

La polmonite interstiziale è la modalità di presentazione più comune della malattia polmonare da Amiodarone. (26-27-28-29)

Tossicità epatica

L'Amiodarone è un potente inibitore della fosfolipasi A e pertanto è responsabile dell'accumulo di materiale ricco di lipidi nei lisosomi. **La causa principale del danno epatico sembra essere invece dovuta al danno diretto ai doppi strati lipidici delle membrane lisosomiali e mitocondriali degli epatociti.** Il danno epatico è caratterizzato istologicamente da steatosi, infiammazione, fibrosi e fosfolipidosi. La fosfolipidosi può essere presente senza evidenza di cirrosi e dovrebbe essere considerata più un'indicazione di assunzione del farmaco piuttosto che di epatotossicità. La combinazione di reperti istopatologici è spesso denominata cirrosi pseudo alcolica, data la somiglianza dei reperti con la classica epatopatia cronica alcolica. La presenza di corpi lamellari lisosomiali carichi di fosfolipidi alla microscopia elettronica può aiutare a distinguere l'epatotossicità dovuta all'Amiodarone dalla malattia epatica alcolica.

La lesione acuta da Amiodarone somministrato per via endovenosa è stata variamente attribuita a tossicità idiosincratca, ipersensibilità e tossicità del veicolo (polisorbato 80). Il materiale autoptico di pazienti con danno epatico acuto presentava necrosi centrolobulare e collasso strutturale con minimi segni di flogosi, cambiamenti che sono indicativi di epatite ischemica. Poiché l'Amiodarone è spesso usato in pazienti con cardiopatia avanzata, **la causa del danno epatico acuto può essere l'ipotensione critica scatenata dall'infusione, piuttosto che un effetto diretto del farmaco.**

Una malattia epatica clinicamente manifesta si presenta, ogni anno, in circa l'1% dei pazienti trattati con Amiodarone. **La lesione epatica si verifica più frequentemente con dosi più elevate e terapia prolungata.** Il dosaggio cumulativo totale può essere importante in quanto l'Amiodarone si accumula e persiste nel tessuto epatico anche molti mesi dopo la sospensione della terapia. (30-31)

Tossicità tiroidea

L'Amiodarone ed il suo principale metabolita (MDEA) possono esercitare effetti tossici diretti sulle cellule tiroidee che è potenziato dall'eccesso di iodio rilasciato dall'Amiodarone. Il MDEA, presente in maggiore concentrazione nella tiroide, è ancora più citotossico per le cellule tiroidee della molecola madre. A livello istopatologico si riscontrano danno follicolare, riduzione del numero dei mitocondri, aumento del numero dei lisosomi e dilatazione del reticolo endoplasmatico. Queste alterazioni determinano una **tiroidite distruttiva e sono alla base della tireotossicosi indotta da amiodarone (AIT2) di tipo 2.** La **tiroidite distruttiva da amiodarone (AIT1) di tipo 1 è invece iodio-indotta** ed insorge in soggetti con una sottostante autonomia funzionale come il morbo di Basedow latente (*Jod-Basedow phenomenon*) o un nodulo con autonomia funzionale.

In una tiroide normale il carico di iodio provoca l'inibizione temporanea della sintesi degli ormoni tiroidei (*effetto Wolff-Chaikoff*) ma l'aumento compensatorio del TSH ripristina la normale produzione ormonale: *escape* dall'effetto *Wolff-Chaikoff*. **In alcuni pazienti la tiroide non è in grado di andare incontro all'escape dall'effetto Wolff-Chaikoff,** determinando un blocco protratto della sintesi di ormoni tiroidei che è alla base dell'ipotiroidismo indotto da Amiodarone (AIH) in soggetti senza una tireopatia di base.

L'Amiodarone può accelerare il decorso naturale della tiroidite di Hashimoto attraverso il danno cellulare tiroideo iodio indotto.

La prevalenza delle patologie tiroidee indotte da Amiodarone è influenzata dalla disponibilità ambientale di iodio.

Inoltre, in condizione di eutiroidismo, l'Amiodarone inibisce l'azione 5'-monodeiodasi epatica sull'anello esterno della tiroxina (T4), riducendo così la produzione di triiodotironina (T3) ed aumentando i livelli di T3 inversa.

In considerazione della loro struttura, simile a quella degli ormoni tiroidei l'Amiodarone e il suo principale metabolita il MDEA, possono legarsi al recettore degli ormoni tiroidei. In conseguenza di questo legame, l'Amiodarone riduce l'effetto trascrizionale della T3 attraverso un meccanismo competitivo determinando un **"ipotiroidismo tissutale"** dovuto alla riduzione dell'effetto degli ormoni tiroidei su vari organi e tessuti nonostante i livelli circolanti degli ormoni tiroidei siano nei limiti della norma. (32-33)

Neurotossicità

Secondo la Mayo Clinic, che ha raccolto i dati di tutti gli adulti residenti nella contea di Olmsted trattati con Amiodarone dal primo gennaio 1996 al 31 luglio 2008, per rilevare tutti i possibili effetti collaterali neurologici attribuibili all'Amiodarone, l'incidenza cumulativa dei probabili effetti neurotossici dovuti all'Amiodarone erano del 2,8%. Durante i 151 mesi di analisi, 707 pazienti sono stati trattati con Amiodarone. Tra i pazienti trattati con Amiodarone, l'1,6% sono stati valutati in

Neurologia per un chiaro effetto collaterale neurologico. I problemi neurologici includevano tremore, andatura atassica, neuropatia periferica e deterioramento cognitivo. **Il principale fattore di rischio per gli effetti neurotossici dell'Amiodarone era la durata del trattamento**, non l'età, la dose del farmaco, il sesso o l'indicazione per la terapia e gli effetti avversi erano di solito ma non sempre reversibili. (34)

Effetti collaterali oculari

L'Amiodarone è una ben nota causa di effetti collaterali oculari, per la tendenza a depositarsi in tutti i tessuti oculari. I depositi corneali (a spirale) si possono formare già in sei giorni di trattamento, ma più comunemente in uno-tre mesi di trattamento. I depositi corneali di Amiodarone appaiono come a forma di spirale perché le cellule epiteliali effettuano una migrazione centripeta dal limbus corneale. L'Amiodarone è un agente fotosensibilizzante per la tendenza a depositarsi nei lipidi della cornea e del cristallino compresa la capsula. Come misura preventiva, dovrebbero essere prescritti occhiali da sole con un filtro UV (400 nm). **L'acuità visiva non è solitamente influenzata**, ma può essere lievemente ridotta. I sintomi dei pazienti includono bagliore, aloni e visione annebbiata. L'effetto collaterale è dipendente dalla dose e dalla durata della terapia. Fortunatamente, gli effetti collaterali regrediscono solitamente con la sospensione dell'Amiodarone. (35)

Effetti avversi cutanei

Le complicazioni dermatologiche dovute all' Amiodarone si riscontrano con incidenza molto variabile, oscillando dal 75% nelle casistiche degli anni 80-90 al 9% dei dati più recenti. Le lesioni cutanee si verificano di solito dopo almeno 4 mesi di terapia. Esse hanno aspetto eritematoso o eczematoso, accompagnate a prurito, e si manifestano nelle parti esposte alla luce solare, solitamente su mani, viso e collo. I sintomi iniziano diversi minuti dopo l'esposizione alla luce solare, continuano fino a 24 ore e in genere diminuiscono in 48 ore, ma in alcuni casi persistono fino a 72 ore. Le reazioni cutanee possono verificarsi anche alcuni mesi dopo la sospensione dell'Amiodarone, per la lenta dismissione dai depositi tissutali e dal suo lento catabolismo. L'iperpigmentazione cutanea è un altro importante effetto avverso che colpisce il 4-9% dei pazienti che assumono Amiodarone. **Contrariamente alle reazioni fototossiche, che non dipendono dal tipo di pelle, l'iperpigmentazione di solito si verifica in pazienti con fototipo di I tipo, più frequente nelle popolazioni nordiche.** L'eliminazione dell'Amiodarone richiede 35-40 giorni, ma nei pazienti obesi può richiedere 100 giorni per la completa escrezione. L'entità delle reazioni dipende principalmente dalla sensibilità individuale della pelle alla luce solare. **L'Amiodarone agisce sulla cute come fotosensibilizzatore.** Molte sostanze fotosensibilizzatrici si concentrano nei lisosomi agendo, sotto l'azione degli ultravioletti, come iniziatori di reazioni a catena dei radicali liberi in grado di danneggiare i sistemi di membrane intracellulari. La pigmentazione cutanea dovuta alla terapia con Amiodarone è stata correlata ai depositi intracellulari visibili alla microscopia ottica come dei granuli marroni più evidenti nei macrofagi dermici. L'effetto Tyndall può spiegare il colore blu-grigio della cute. Unica raccomandazione terapeutica: la sospensione dell'Amiodarone. (36-37)

Interazioni farmacologiche

Secondo Emanuele Cappiello (Amiodarone: interazioni farmacologiche e gestione degli effetti collaterali. *Ital Heart J* 2001; 2 (Suppl 5): 59S-81S), le interazioni farmacologiche dell'Amiodarone si distinguono in farmacologiche, farmacocinetiche e farmacodinamiche.

Le interazioni farmacologiche si verificano quando Amiodarone reagisce con un altro farmaco nella stessa soluzione (aminofillina, bicarbonato di sodio, eparina, cefamandolo, cefazolina, gluconato di chinidina e mezlocillina) o quando reagisce con gli elettroliti presenti in soluzione come nel caso delle formazioni di precipitati in soluzione fisiologica.

Le interazioni farmacocinetiche dell'Amiodarone si verificano quando assorbimento, distribuzione, biotrasformazione o eliminazione di un farmaco vengono modificati dalla contemporanea somministrazione con altri farmaci: ciclosporina, Warfarin, chinidina, rifampicina e numerosi altri farmaci. Le interazioni farmacocinetiche dell'Amiodarone con altre molecole si basano sulla clearance metabolica mediata dalla superfamiglia di monossigenasi, il sistema del citocromo P450 (CYP) codificate dai geni del CYP, localizzate in sede microsomiale ed il processo di eliminazione farmacologico attivo mediato dalla glicoproteina P.

Le interazioni farmacodinamiche si verificano quando gli effetti biochimici e/o elettrofisiologici di un farmaco sono influenzati dall'Amiodarone per l'attività diretta sullo stesso sito di azione, con risultati che potrebbero essere vantaggiosi o potenzialmente pericolosi.

In uno studio retrospettivo a coorte condotto tra i Pazienti del *Taiwan National Health Insurance Administration (NHIA)*, che alla fine del 2016, seguiva 23 milioni di assicurati, sono stati identificati 91.330 pazienti con fibrillazione atriale non valvolare (età media, 74,7 anni [DS, 10,8]; uomini, 55,8%, trattati con NOAC (dabigatran, 45.347 pazienti; rivaroxaban, 54.006 pazienti; e apixaban, 12.886 pazienti). I farmaci più spesso co-prescritti con i NOAC erano atorvastatina (27,6%), diltiazem (22,7%), digossina (22,5%), e amiodarone (21,1%). L'analisi ha rilevato 4.770 eventi emorragici maggiori ed **il rischio sanguinamento era significativamente aumentato dall'uso concomitante di amiodarone, fluconazolo, rifampicina o fenitoina rispetto al NOAC usato da solo.**

L'Amiodarone, associato ad un NOAC, in tutte le analisi primarie e secondarie, era significativamente associato ad episodi di sanguinamento. Nel periodo di osservazione, la combinazione di un uso di un NOAC con l'Amiodarone risultava associato ad un'aumentata incidenza di sanguinamento (maggiore di 13,94 eventi per 1000 anni-persona), **superando qualsiasi vantaggio** che tale combinazione potrebbe fornire. (38)

<https://www.aafp.org/afp/2003/1201/p2189.html>

http://www.giornaledicardiologia.it/allegati/00827_2001_12/fulltext/S5-2001_10%2059-81.pdf

Precauzioni d'uso

All'inizio del trattamento

Gli esami di base dovrebbero includere la funzione tiroidea (TSH, FT4, T3) e gli Anticorpi anti-TPO, poiché la presenza di questi anticorpi comporta un rischio 7 volte superiore di ipotiroidismo rispetto ai Pazienti senza autoanticorpi.

Altri screening di base includono gli esami funzionalità epatica (AST, ALT, fosfatasi alcalina) ed una radiografia del torace.

Follow up

Successivamente, i test di funzionalità tiroidea possono essere eseguita ogni sei mesi.

Prevenzione della tossicità polmonare (Cappiello docet): una valutazione clinica periodica e un'adeguata informazione del paziente, che deve imparare a riferire prontamente nuovi sintomi sospetti, rappresentano probabilmente la strategia più semplice e più utile per una diagnosi precoce di tossicità polmonare da Amiodarone.

Controlli da eseguirsi su indicazione clinica

I test di routine oculistici e pneumologici non sono utili ma dovrebbe essere eseguito su indicazione clinica.

<https://www.aafp.org/afp/2003/1201/p2189.html>

Primum non nocere

È fondamentale mantenere un atteggiamento vigile, informando il Paziente sulla natura dei possibili effetti collaterali.

Livelli tossici

Dato che le concentrazioni plasmatiche > 2,5 mg / l sono associate ad un aumentato rischio di tossicità, bisogna avere come obiettivo terapeutico la minima dose efficace per ridurre il rischio degli effetti collaterali.

Considerazioni conclusive

Fibrillazione atriale

La terapia con Amiodarone deve seguire il principio della massima appropriatezza terapeutica e per questa ragione deve essere *escluso dai trattamenti antiaritmici orali della fibrillazione atriale*.

Selection of antiarrhythmic drugs for long-term therapy: safety first! ESC Guidelines Atrial Fibrillation 2016. Paragrafo 10.2.4 "L'Amiodarone può essere utile per il controllo (nella terapia cronica) della risposta ventricolare come ultima risorsa. Gli effetti avversi extracardiaci associati all'Amiodarone lo rende un agente di riserva nei Pazienti la cui frequenza cardiaca non può essere controllata con la terapia (beta bloccante/verapamil/diltiazem + digossina) combinata.

Nei Pazienti critici e in quelli con funzione sistolica severamente depressa, l'Amiodarone per via endovenosa può essere usato quando l'elevata frequenza cardiaca rischia di compromettere la stabilità emodinamica.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9514456>

<https://journals.lww.com/ccmjournal/pages/articleviewer.aspx?year=2001&issue=06000&article=00011&type=abstract>

Aritmie ventricolari

L'Amiodarone è il farmaco di scelta per il trattamento di TV emodinamicamente instabili refrattarie ad altri agenti antiaritmici.

Protocollo per la soppressione acuta della TV: 150 mg in 10 minuti, seguiti da 1 mg / min per 6 ore, quindi 0,5 mg / min per 18 ore; la dose di mantenimento è 0,5 mg / min.

<https://academic.oup.com/europace/advance-article/doi/10.1093/europace/eux373/4846844>

L'Amiodarone è considerato sicuro ed efficace per l'uso nell'arresto cardiaco extraospedaliero.

<https://emedicine.medscape.com/article/159075-medication#5>

[https://www.internationaljournalofcardiology.com/article/S0167-5273\(16\)31488-7/fulltext](https://www.internationaljournalofcardiology.com/article/S0167-5273(16)31488-7/fulltext)

In confronto con la terapia beta bloccante, l'Amiodarone riduce significativamente le ricorrenze aritmiche/le terapie AICD appropriate (profilassi secondaria) **durante il primo anno di terapia.**

<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/202178>

Tuttavia, nella profilassi secondaria, **l'uso a lungo termine dell'Amiodarone** è associato ad alti tassi di ricorrenze aritmiche e gravi effetti collaterali che possono aumentare la mortalità rispetto al placebo, limitandone l'uso in attesa di soluzioni terapeutiche interventistiche (ablazione) che attualmente devono essere considerate l'obiettivo terapeutico.

La terapia con Amiodarone può essere presa in considerazione come primo step nel trattamento dopo uno *storm* aritmico in un portatore di AICD in alternativa all'ablazione transcateretere, non più differibile in caso di recidiva.

Non esiste una terapia di mantenimento con l'Amiodarone se non in Pazienti con ridotta aspettativa di vita come soluzione palliativa.

<https://www.hrsonline.org/content/download/21499/944953/file/2014-Expert-Consensus-on-Ventricular-Arrhythmias.pdf>

<https://academic.oup.com/europace/advance-article/doi/10.1093/europace/eux373/4846844>

Bibliografia

- (1) <http://heart.bmj.com/content/8/4/171>
- (2) [http://www.ajconline.org/article/0002-9149\(76\)90807-9/pdf](http://www.ajconline.org/article/0002-9149(76)90807-9/pdf)
- (3) https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/pre96/18-972_Cardarone.cfm
- (4) <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF03259911>
- (5) <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.20634/epdf>
- (6) <https://academic.oup.com/edrv/article/22/2/240/2424097>
- (7) <https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajplung.00434.20>
- (8) <http://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajplung.00434.2003>
- (9) <https://academic.oup.com/cardiovasres/article/98/1/136/312793>
- (10) https://academic.oup.com/europace/article/16/suppl_4/iv39/489391
- (11) <https://academic.oup.com/cardiovasres/article/35/1/13/292880>

- (12) <http://circ.ahajournals.org/content/69/1/120.short>
- (13) <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022073684810882>
- (14) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28030480>
- (15) <https://www.hrsonline.org/content/download/33062/1434256/file/2017%20AHA-ACC-HRS%20Guideline%20for%20Management%20of%20Patients%20with%20VA%20and%20Prevention%20of%20SCD.pdf>
- (16) <http://circ.ahajournals.org/content/110/2/112#T2>
- (17) [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(96\)09145-3/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(96)09145-3/abstract)
- (18) [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(96\)08171-8/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(96)08171-8/fulltext)
- (19) [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(97\)22010-6/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(97)22010-6/fulltext)
- (20) <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa043399#t=article>
- (21) <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1513614>
- (22) [http://www.heartrhythmjournal.com/article/S1547-5271\(16\)30005-4/pdf](http://www.heartrhythmjournal.com/article/S1547-5271(16)30005-4/pdf)
- (23) [http://www.heartrhythmjournal.com/article/S1547-5271\(17\)31012-3/pdf](http://www.heartrhythmjournal.com/article/S1547-5271(17)31012-3/pdf)
- (24) <http://electrophysiology.onlinejacc.org/content/early/2017/01/26/j.iacep.2016.11.005>
- (25) <http://ipet.aspetjournals.org/content/298/3/1280.long#xref-ref-36-1>
- (26) [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(16\)31043-1/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(16)31043-1/fulltext)
- (27) [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(16\)31827-X/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(16)31827-X/fulltext)
- (28) [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(15\)35825-6/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(15)35825-6/fulltext)
- (29) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2687560/>
- (30) <https://livertox.nih.gov/Amiodarone.htm>
- (31) <http://www.farmacovigilanza.eu/node/10>
- (32) http://www.giornaledicardiologia.it/articoli.php?archivio=yes&vol_id=2674&id=27399
- (33) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3474631/>
- (34) <https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/797599>
- (35) <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039625797001185>
- (36) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4250032/>
- (37) <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/fullarticle/419274>
- (38) <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2656168?redirect=true>