

Universidade da Beira Interior
Faculdade de Ciências da Saúde

*Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) Tipo I:
Uma Visão Actual, de um Problema de Saúde Antigo*

Dissertação realizada para obtenção do Grau de Mestre em Medicina

Bruno Aurélio dos Santos Vieira

Covilhã, Junho de 2008

Universidade da Beira Interior
Faculdade de Ciências da Saúde

6º Ano de Mestrado-Licenciatura em Medicina

Ano Lectivo 2007/2008

*Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) Tipo I:
Uma Visão Actual, de um Problema de Saúde Antigo*

Dissertação realizada para obtenção do Grau de Mestre em Medicina

Orientação: Dr. António Jorge Santos Silva

Bruno Aurélio dos Santos Vieira

Covilhã, Junho de 2008

Dedicatória

À minha namorada, Elisa, por ter acreditado em mim.

À minha família pelo apoio e compreensão ao longo de todos estes anos.

Agradecimentos

A realização deste trabalho partiu de uma ideia esqueleto que foi ganhando vida, graças não só ao meu esforço e dedicação, mas também ao de muitos outros, sem os quais a realização deste trabalho não teria sido possível.

Gostaria de agradecer ao meu orientador de Mestrado, Dr. António Santos Silva, pela disponibilidade, ajuda e incentivo na realização deste trabalho.

Ao Centro de Estudos de Apoio à Paramiloidose na Póvoa de Varzim, nomeadamente à Dra. Laura Farinho, pela disponibilidade e simpatia demonstrada nas minhas visitas ao CEAP.

Ao Dr. Pinho e Costa pelo material gentilmente cedido para a realização deste trabalho.

Ao José Monte pelo apoio técnico prestado.

À minha namorada, Elisa, pela ajuda na realização deste trabalho bem como pelo optimismo transmitido nos momentos mais difíceis.

Pensamento

“Aquele que sabe porque vive pode aturar a vida de que maneira for.”

Nietzche

Abreviaturas

Col. – Colaboradores

Ed. – Editor

Eds. – Editores

Nº. – Número

pp. – Página

Prof. – Professor

Siglas

CEAP – Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose

CEP – Centro de Estudos da Paramiloidose

DGPI – Diagnóstico Genético Pré-Implantatório

ELISA – Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

FISH – Fluorescent In Situ Hybridization

HUC – Hospital Universitário de Coimbra

PAF – Polineuropatia Amiloidótica Familiar

PCR – Polimerase Chain Reaction

RBP – Proteína de Ligação ao Retinol

SNP – Sistema Nervoso Periférico

TTR – Transtirretina

TTR V30M – Transtirretina com substituição da Valina por Metionina na posição 30.

Resumo

A Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) do tipo I, tipo Português ou de Andrade é uma forma de amiloidose sistémica, heredo-degenerativa, autossómica dominante, identificada e descrita pela primeira vez pelo neurologista português Mário Corino da Costa Andrade, nos anos 50.

Desde a descrição inicial de Corino de Andrade do foco da doença na Póvoa de Varzim e Vila do Conde, outros focos se foram configurando, em Portugal e um pouco por todo o Mundo.

Fez-se uma revisão bibliográfica sobre Polineuropatia Amiloidótica Familiar utilizando como base livros temáticos, artigos científicos e motores de busca na Internet como o *Pubmed*.

Alguns estudos comparando haplótipos em diversos focos de doença em todo o mundo, concluíram que a mutação Val30Met resulta de uma mutação ancestral, de origem comum, corroborando a hipótese de a mutação ter de facto origem em Portugal.

As principais manifestações da doença são consequência da polineuropatia sensitiva, motora e autonómica, podendo assumir diferentes padrões clínicos e constituindo-se como uma doença consumptiva e fatal.

Foi possível concluir que a substância amilóide que se deposita nos nervos periféricos e em quase todos os órgãos, é composta por fibrilhas formadas a partir de uma proteína circulante, a transtirretina (TTR). Actualmente alguns estudos lançam a dúvida sobre a relação causal entre a deposição de substância amilóide e a degenerescência das fibras nervosas, sugerindo que a TTR mutante não fibrilhar é, ela própria, patogénica para a fibra nervosa.

À luz destes novos conhecimentos foi possível introduzir três novos procedimentos diagnósticos, o diagnóstico pré-sintomático, o diagnóstico pré-natal e o diagnóstico pré-implantatório.

Como mais de 90% da TTR Val30Met é produzida no fígado, o único tratamento considerado específico e capaz de suspender a evolução da doença é o transplante hepático, porque leva ao desaparecimento da proteína mutante. Actualmente ocorrem em Portugal, cerca de metade dos transplantes hepáticos por PAF realizados em todo o Mundo. O transplante hepático veio retirar à PAF, o seu carácter progressivo e necessariamente fatal, todavia veio também acrescentar outros riscos e problemas. Por esse motivo, novas estratégias de combate à PAF, são necessárias. Estudos experimentais têm sido realizados, sobre o efeito de terapêuticas farmacológicas, quer no sentido da disrupção dos depósitos já estabelecidos, quer no sentido da estabilização da TTR não fibrilhar, de modo a impedir a formação e a deposição de fibrilhas.

Sumário

Introdução	1
Material e Métodos	4
1- Corino de Andrade e a Origem da PAF	6
2.1 - Evolução Histórica	9
3- Amiloidoses e PAF	11
4- A PAF e a TTR	12
5 - Patologia Molecular na PAF	14
5.1- Depósitos de Amilóide e Degenerescência das Fibras Nervosas	14
5.2 - Agregados não Fibrilhares e Degenerescência das Fibras Nervosas	15
6- Propagação da PAF.....	16
6.1- Fundamentação Histórica	17
6.2- Fundamentação Científica.....	19
7- Clínica e História Natural da PAF.....	21
7.1- Idade de Início.....	21
7.2- Manifestações Clínicas.....	22
7.2.1- Perturbações Sensitivas	24
7.2.2- Perturbações Motoras	24
7.2.3- Perturbações Autonómicas.....	25
7.2.4- Manifestações Cardiovasculares	26
7.2.5- Manifestações Gastrointestinais.....	27
7.2.6- Manifestações Cutâneas	28
7.2.7- Manifestações Renais	28
7.2.8- Manifestações Oculares.....	29
7.2.9- Manifestações Sexuais	30
8- Estádios da Doença	30
9- Diagnóstico.....	31
10- Tratamento	35
10.1- Princípios Gerais da Abordagem ao Doente com PAF	35
10.2- Tratamento Medicamentoso	37
10.2.1- Tratamento da Dor Nevralgica.....	37

10.2.2- Tratamento da Dismotilidade Digestiva.....	38
10.2.3- Tratamento da Hipotensão Ortostática.....	38
10.3- Transplante Hepático	38
10.4- Novos Desafios no Tratamento da PAF	41
10.4.1- Imunização na PAF	42
10.4.2- Doxíciclina no Tratamento da PAF.....	43
11- Dados Estatísticos.....	45
Conclusão	54
Bibliografia.....	58

Índice de Figuras

Figura 1 – Distribuição mundial da PAF. A magnitude dos círculos representados, está relacionado com o número de pacientes em cada localização	17
Figura 2 – Manifestações clínicas da PAF Tipo I	23
Figura 3 – Mapa das principais regiões afectadas pela PAF	47
Figura 4 – Variação do peso relativo das regiões na distribuição de portadores, após 1989	49

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Dados relativos ao estado civil de portadores de PAF inscritos no CEAP, no período (2001-2007)	51
Gráfico 2 – Dados relativos ao numero de doentes transplantados por ano e sexo	51
Gráfico 3 – Nascimentos em risco, desde 1980 até 2007	52

Índice de Quadros

Quadro 1-	Distribuição dos doentes e portadores do gene preditivo da doença por regiões	46
Quadro 2 -	Quadro Comparativo de indivíduos portadores de PAF por região/Ano de registo	48

Introdução

Integrada no plano curricular do 6º ano de Mestrado-Licenciatura em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, está a realização de uma Tese de Mestrado. Após reflexão, pesquisas, discussão, avanços e recuos, consegui chegar a uma “conclusão” relativamente ao tema a desenvolver, que passo a citar “Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) Tipo I: Uma visão actual, de um problema de saúde antigo”.

Amiloidose é o termo genérico, utilizado para designar um grupo heterogéneo de distúrbios, caracterizado pela deposição de proteínas, de estrutura fibrilar, no espaço extracelular de diferentes tecidos. É conhecida como entidade nosológica há quase quatro séculos (Lobato L., 2004).

A constatação da ocorrência de um padrão familiar associado a algumas formas de amiloidose foi-se verificando ao longo dos anos. As primeiras descrições de famílias com Polineuropatia Amiloidótica remontam a 1929 e 1938, mas a designação inicial atribuída foi a de amiloidose primária, por oposição à secundária (associada às doenças inflamatórias crónicas, infecciosas ou reumáticas) (Lobato L., 2004).

A substituição do aminoácido Valina, pelo aminoácido Metionina, na posição 30 do cromossoma 18, resulta na clássica Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) tipo I, ou tipo Português, descrita em 1952 pelo neurologista português, Corino de Andrade, em pessoas do litoral norte de Portugal, Póvoa de Varzim e Vila do Conde. A partir da publicação na revista “Brain” do artigo, “Uma forma peculiar de Neuropatia Periférica – amiloidose generalizada, atípica, familiar, com especial envolvimento dos nervos periféricos”, a amiloidose hereditária passou a ser amplamente reconhecida (Andrade C., 1952).

Até há cerca de 20 anos, acreditava-se que a PAF teria uma ocorrência endémica, respeitando uma delimitação geográfica muito concreta, contudo, devido aos grandes avanços da Bioquímica e Genética Molecular é hoje aceite que se trata de uma doença disseminada pelo Mundo (Ando Y. *et al* 2005).

A PAF é uma amiloidose sistémica, neurodegenerativa, autossómica dominante, caracterizada por uma severa e progressiva polineuropatia sensitiva, motora e autonómica, podendo assumir diferentes perfis clínicos e constituindo-se na sua história, como uma doença consumptiva e fatal (Andrade C., 1952).

Esta doença hereditária tem uma grande prevalência em Portugal, que representa o maior foco a nível Mundial, seguido pelo Japão e Suécia (Ando Y., 2005).

Até Dezembro de 2003 foram observados no Centro de Estudos de Paramiloidose (CEP), 2093 doentes, correspondendo a 583 famílias, aparentemente não relacionadas entre si.

Desde a descrição inicial, por Corino de Andrade, de 12 famílias portadoras de PAF, que o seu número tem vindo a aumentar. Calcula-se que um novo portador nasça a cada semana, uma nova família seja identificada a cada mês e 50 novos doentes surjam a cada ano. A progressão da doença, em Portugal, traduzida nestes números, associada ao seu carácter progressivo, incapacitante e afectando essencialmente indivíduos jovens, torna-a num problema grave de Saúde Pública, sobre o qual urge actuar (Coutinho P., 1989).

Foi por todas as características atrás mencionadas, por de perto ter testemunhado o perfil inexorável e funesto desta doença, junto de amigos e vizinhos, que decidi desenvolver este tema.

Com este trabalho pretendo alcançar os seguintes objectivos:

- Aprofundar conhecimentos sobre a PAF;
- Dar a conhecer o trajecto da doença, desde a sua descrição inicial, até aos dias de hoje;
- Descrever o estado actual da doença;

- Esboçar perspectivas futuras.

A melhor forma de travar a doença, bem como todas as malélicas consequências que esta arrasta, será a informação. Desta forma vou envidar esforços para que este trabalho possa servir as finalidades para que é criado.

Material e Métodos

Os indicadores bibliométricos reflectem a actividade científica. A publicação científica é uma etapa chave de todo o projecto de investigação, uma etapa em que os resultados se submetem ao escrutínio público.

No presente trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica exaustiva acerca do tema Paramiloidose Amiloidótica Familiar, de forma a transmitir sucinta, clara e objectivamente toda a informação obtida através da análise e síntese de estudos primários de investigação, de artigos de revisão e de livros da especialidade.

Foram analisados artigos presentes nas Bases de Dados, Medline com a interface de pesquisa PubMed e Google Académico. Foi elaborada uma lista de termos, a partir da qual foram compostas diferentes combinações de palavras-chave, na língua portuguesa e inglesa, de forma a aumentar a sensibilidade da pesquisa. As palavras-chave seleccionadas foram: Amiloidose, Amiloidosis; Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF), Familial Amyloidotic Polyneuropathy (FAP); Transtirretina (TTR), Transthyretin (TTR); Amilóide; Depósitos, Deposits; Tratamento, Treatment; Transplante, Transplant.

Foram considerados todos os artigos independentemente da sua tipologia, tais como, artigos de revisão e estudos primários de investigação. Recolheu-se o título dos artigos, autores, ano e tipo de publicação. Depois de seleccionados os artigos, os resumos foram lidos para identificação de conteúdos que estivessem de acordo com a revisão proposta. Foram excluídos os artigos que na leitura do resumo não apresentaram relação com o tema em questão.

Outras fontes utilizadas para recolha de material bibliográfico foram o Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose (CEAP) na Póvoa de Varzim e o Centro de Estudos de

Paramiloidose no Porto, através dos quais pude reunir diversos artigos/livros científicos e dados estatísticos, essenciais para a elaboração deste trabalho. Obtive junto do Dr. Santos Silva, orientador do presente trabalho, uma importante colaboração na pesquisa de material bibliográfico.

Polineuropatia Amiloidótica Familiar

(PAF)

1- Corino de Andrade e a Origem da PAF

Mário Corino da Costa Andrade nasceu em Moura a 10 de Junho de 1906. Em Beja fez a Escola Primária e o Liceu. Em 1922, ingressa na Faculdade de Medicina em Lisboa., Licenciando-se em 1929 em Medicina e iniciando de imediato a sua formação em ciências neurológicas, com o Professor António Flores (Barbosa R., 2000).

Seguidamente, faz estágio no Serviço de Neurologia, do Hospital de Santa Maria, em Lisboa, onde encontra Egas Moniz. Entre 1930 e 1938, exerce funções como assistente na Clínica Neurológica da Faculdade de Medicina de Estrasburgo, dirigida pelo Professor Barré, um dos maiores nomes da Neurologia Francesa (Coutinho P., 1989). Em 1937, realiza estágio em Neuropatologia, no Laboratório de Óscar Vogt, famoso Neuropatologista.

Em 1938, regressa a Portugal, nomeadamente ao Porto, trabalhando no Hospital Psiquiátrico do Conde Ferreira. Duma curiosidade insaciável, arguto, irreverente e obstinadamente teimoso, verdadeiro contestante nato, com aquela pontinha de salutar amor-próprio sem a qual só os génios podem ter alguma originalidade criadora (Resende, 1976). É em 1939 que observa o primeiro doente com Paramiloidose, dando assim início à sua investigação. Esta pode subdividir-se em quatro períodos: Um primeiro período, ou “Período de Incubação”, que tem início em 1939 (data das primeiras observações de doentes da Póvoa de Varzim e Vila do Conde). É neste ano que Corino de Andrade observa pela primeira vez uma doente de 37 anos, residente na Póvoa de Varzim com "uma forma peculiar de neuropatia" (Coutinho P., 2001). A síndrome neurológica, a história clínica (com

adormecimento, formigueiro, falta de sensibilidade térmica e dolorosa nos membros inferiores e superiores, dificuldades na marcha e diarreias), e a noção de que na sua família e na sua terra existiam muitos doentes semelhantes, tais como pescadores que não sentiam dor quando se cortavam nas cordas dos barcos e se queimavam com os cigarros, despertou o interesse de Corino de Andrade, visto não se enquadrar em nenhuma patologia até então descrita, levando-o ao início da investigação da doença (Andrade C., 1952).

Os anos seguintes são de estudo e reflexão, procurando eliminar algumas hipóteses diagnosticas, tais como a lepra, as avitaminoses, toxicoses e certas afecções degenerativas hereditárias como a siringomielia baixa familiar. Chega assim à amiloidose dos nervos (Coutinho P., 1989).

Esta afecção, há muito que era conhecida pelos habitantes da zona Noroeste de Portugal, como uma doença fatal, a curto prazo, que afectava certas famílias, sendo que os afectados aguardavam a sua lenta, mas progressiva, evolução até à morte. Denominavam-na como “Mal dos Pezinhos” (Barbosa R., 2000).

É durante este período de investigação que Corino de Andrade passa a exercer funções no Hospital de Santo António, criando o Serviço de Neurologia (1941), para o qual é nomeado director, reformando-se em 1976. Mesmo estando já afastado do trabalho hospitalar, orienta ainda a fundação de uma nova Escola de Medicina, o Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (Coutinho P., 1989).

Este período termina em 1952, ano em que a PAF foi reconhecida internacionalmente como uma nova doença (Coelho T. *et al* 1994).

É no decorrer do “período de incubação” que Corino de Andrade efectua regulares viagens a Lisboa para discutir casos clínicos e preparações histológicas com uma equipa que integrava nomes como Egas Moniz, Miller Guerra e João Alfredo Lobo Antunes. Foi um jovem patologista, Jorge Horta, quem pela primeira vez afirmou que a substância extra-celular que infiltrava os tecidos destes pacientes era amilóide, com características tinturiais muito

próprias, acabando por se designar de Paramiloidose. Este foi um passo decisivo para que em 1952, Corino de Andrade desse a conhecer ao Mundo, uma nova entidade patológica, através da publicação na revista “Brain” do artigo, “Uma forma peculiar de Neuropatia Periférica – amiloidose generalizada, atípica, familiar, com especial envolvimento dos nervos periféricos” (Luís M.L.S., In Barros J. *et al* 2006).

Segue-se um segundo período de estado que se prolongou até 1980; um terceiro período que se caracteriza pela explosão do conhecimento científico acerca da doença; e um quarto período que se inicia com a terapêutica pelo transplante hepático e que se prolonga até aos dias de hoje (*idem*).

Corino de Andrade teve a grandeza de assumir que “sábios são aqueles que procuram”, acabando por demonstrar que um clínico pode ser um investigador, quando munido de atitude de pesquisa e atenção selectiva, alicerçado no trabalho de uma equipa multidisciplinar e na colaboração entre ciência básica e ciência clínica (*idem*).

2 – Amiloidoses

A amiloide é uma substância de natureza proteica que se deposita no espaço extracelular de vários tecidos. Amiloidose, não é mais do que a doença que resulta da presença desses depósitos (Benson M.D., 2001).

Trata-se de uma designação genérica, para as fibrilhas proteicas, com afinidade selectiva para o vermelho do Congo, birrefringência verde maçã na deflexão da luz polarizada e características particulares na microscopia electrónica (Benson M.D., 2001).

A amiloidogênese envolve precursores proteicos específicos que quando sujeitos a alterações da clivagem proteolítica; substituições específicas de aminoácidos ou simples produção em excesso, constituem agregados proteicos que se depositam (idem).

Estes agregados apresentam uma estrutura ordenada, formando fibrilas com 75 a 100 Angstrom em corte transversal, comprimento indeterminado e configuração β -pregueada na difração de raios-X (Cohen A.S., 1959).

Os vários tipos de Amiloidose, sua apresentação clínica e evolução, dependem dos órgãos atingidos, podendo ser estabelecidos padrões clínicos conforme a proteína precursora envolvida (Grateau G., 2000).

As formas sistêmicas estão normalmente associadas a processos inflamatórios e infecciosos crônicos, doenças hereditárias, doença dos plasmócitos, ou diálise crônica. Os depósitos de amilóide localizados estão presentes na doença de Alzheimer, encefalopatias espongiiformes e diabetes tipo 2 (Grateau G., 2000).

2.1 - Evolução Histórica

A descrição inicial da Amiloidose como doença particular verificou-se no século XVII e resultou do relato de dados obtidos em autópsias.

Em 1939, Nicholaus Fontanus descreveu um baço branco, em esponja, duro e preenchido por uma substância esbranquiçada. Seguiram-se descrições semelhantes de Thomas Bartholin, Bonet, Malpighi e Morgagni (Benson M.D., 2001; Cohen A.S., 1996; Cohen A.S. 2000; Kyle R.A., 2001).

Antoine Portal, em 1789, documentou uma “substância lardiforme” (semelhante a toucinho), em dois pacientes com tuberculose, substância esta que endurecia com o calor tal como a albumina (idem).

Rokitansky, em 1842, descreve detalhadamente esta “substância lardiforme” em vários doentes, que atribuiu a esteatose, contudo, três anos mais tarde, Budd afirmou tratar-se de albumina (degenerescência Cérea) (idem).

Alguns anos mais tarde, Gairdner documentou o envolvimento multiorgânico por essa substância.

Foi Schleiden, em 1858, quem introduziu pela primeira vez o termo “amilóide”, para descrever um constituinte amiláceo das plantas, mas foi Rudolph Virchow, quem atribuiu à substância lardiforme a designação de amilóide, por corar de azul com o iodo e após tratamento com ácido sulfúrico, adquirir um tom violeta (idem).

A defesa dos termos cérea, lardiforme, amilóide, foi motivo de acesa discussão e controvérsia, até que no fim do século XIX a *Royal Society of London* designou uma comissão para estabelecer a nomenclatura definitiva, que adoptou o termo lardiforme. Sem uma explicação clara, a designação amilóide, foi perpetuada até aos dias de hoje (idem).

Ao longo de anos, foi-se tornando evidente, que essas doenças podiam apresentar um carácter hereditário. Com a descrição da PAF por Corino de Andrade, a hereditariedade nas amiloidoses, ganhou ampla projecção (Andrade C., 1952).

Em 1983 e 1984, foi descrito pela primeira vez a substituição de uma Valina por uma Metionina na posição 30 em famílias Japonesas, Portuguesas e Suecas (Tawara S. *et al* 1983; Saraiva M.J. *et al* 1983; Saraiva M.J. *et al* 1984).

A descrição de outros tipos de amilóide sucedeu nos anos seguintes.

3- Amiloidoses e PAF

Como já referido anteriormente, as Amiloidoses são um grupo de doenças definido pela presença de depósitos de proteína insolúvel (fibrilas), no espaço extra-celular de diversos tecidos. Actualmente, as Paramiloidoses Amiloidóticas Familiares, estão englobadas no grande grupo das amiloidoses hereditárias. Existem quatro tipos diferentes de PAF: PAF tipo I (de Andrade ou tipo Português), associada à mutação da TTR V30M; PAF tipo II (de Rukovina ou tipo Indiana), associada à mutação TTR i84S (Maury C.P.J., 1991), PAF tipo III (de Van Allen ou tipo Iowa) associada à mutação da apolipoproteína A1 (Van Allen M.W., 1969; Nichols W.C, 1990) e finalmente a PAF tipo IV (de Meretoja ou tipo Finlandês) associada à gelsolina (Maury C.P.J., 1991).

As amiloidoses hereditárias autossómicas dominantes (grupo ao qual pertence a PAF tipo I, de Andrade ou tipo Português), constituem um grupo de doenças que geralmente se caracteriza por envolvimento sistémico e início tardio. As fibrilas que estão na origem dos depósitos, podem ter diferentes precursores, tais como a transtirretina (TTR), apolipoproteína, fibrinogénio, lisozima, cistatina e gelsolina (Benson M.D., 2001).

As amiloidoses com TTR como precursor são as mais frequentes de entre as amiloidoses hereditárias generalizadas. De uma forma geral, acometem os nervos periféricos, sendo comum a sua descrição como neuropáticas (idem).

4- A PAF e a TTR

PAF tipo I (tipo português ou de Andrade), não tem hoje melhor descrição do que a aquela que foi feita por Corino de Andrade, no “artigo original”, publicado em 1952, “A peculiar form of peripheral neuropathy – amyloidosis, atypical, and familiar, with special involvement of peripheral nerves” (Andrade C. 1952).

Com os avanços da bioquímica e da genética molecular, ao longo de anos foram-se revelando os “segredos” anatomopatológicos desta entidade patológica, como a deposição sistémica extra-celular de fibrilhas amilóides no tecido conjuntivo, excepto no cérebro e parênquima hepático, afectando particularmente o sistema nervoso periférico (SNP) (Coimbra A. *et al* 1971; Luís M.L.S. In Barros J. 2006) e a identificação da Transtirretina (pré-albumina ou TTR), como a proteína associada aos depósitos de amilóide (Costa P.F. *et al*, 1978).

A TTR é uma proteína que é sintetizada 90% pelo fígado, mais concretamente no hepatócito. O epitélio pigmentar da retina (Cavallaro T. *et al*, 1990) e as células epiteliais dos plexos coroideus (Herbert J. *et al*, 1986) no cérebro são responsáveis por parte da síntese extra-hepática de TTR, o que explica a deposição de amilóide no vítreo e nas leptomeninges (Almeida A., 2003). O seu nome, TTR, descreve as suas funções: transportar a vitamina A, o retinol e a tiroxina (Almeida A., 2003). A TTR é uma proteína tetrâmera, relacionada com o transporte da proteína de ligação ao retinol (RBP), proteína de ligação da vitamina A, de lípidos e da tiroxina.

Em situações normais, a TTR que circula no sangue é solúvel, no entanto, quando mutada torna-se insolúvel acumulando amilóide nos tecidos, o que provoca lesões sistémicas (Saraiva M.J.M., Costa P. & Goodman D., 1986).

Estão descritas mais de 80 mutações, mas nem todas são patogénicas (Saraiva M.J. 2001 (a); Saraiva M.J., 2001 (b)). A mutação TTR V30M, que consiste na substituição de um único aminoácido, de valina por metionina, na posição 30 do cromossoma 18, é a mais comum, pode ser encontrada um pouco por todo o mundo, embora tenha o seu maior foco em Portugal. É esta a mutação associada à PAF tipo I (tipo Português ou de Andrade).

Esta mutação do gene da TTR, é a razão pela qual a doença se transmite de pais para filhos, de uma forma autossómica dominante, com carácter mendeliano simples, tendo cada filho 50% da probabilidade de herdar esse gene, independentemente do sexo, ficando desse modo portador da doença. (Andrade C., 1969).

A Paramiloidose não se encontra ligada ao sexo, mas existe uma evidente predominância de pacientes com expressão clínica da PAF, do sexo masculino. Segundo Sequeiros *et al* (1991), num estudo envolvendo 1072 pacientes com PAF, encontrou uma relação entre homens e mulheres de 1,45 / 1, associada a uma relação das idades médias para o início da doença entre homens e mulheres, de 31,7 / 34,8, pelo que se pôde concluir que as mulheres manifestam a doença mais tardiamente, existindo mais mulheres do que homens assintomáticos.

De acordo com Sousa *et al* (1990) nos doentes portugueses, há influência entre o sexo do progenitor transmissor da doença e a idade de apresentação da mesma, conduzindo a transmissão materna a um início mais precoce e a paterna a um início mais tardio da doença. Relacionando o sexo do progenitor e do doente, verificou-se que os filhos de mães com esta doença, a manifestam mais cedo, enquanto que as filhas de pais com a doença, a manifestam mais tardiamente (Araki S., 1995).

Esta amiloidose atinge o jovem adulto (20 e os 35 anos), o seu quadro clínico é geralmente constituído por uma neuropatia periférica, que afecta as fibras não mielinizadas, dando origem a alterações autonómicas e termo-álgicas (Freitas A.F., 1976). Como uma

árvore que atingida no seu tronco, começa a secar pelas partes mais afastadas dos seus ramos (Coutinho P., 1989).

A PAF apresenta-se com manifestações autonómicas, sensitivas, e motoras, afectando os nervos periféricos, que conduz em poucos anos à incapacidade, por atingimento progressivo da sensibilidade e da mobilidade dos membros (Resende J., 1976)

Ainda não se sabe sobre a PAF, qual dos factores provoca a degenerescência dos nervos periféricos. Se é a substância “amilóide”, se é a TTR V30M, ou mesmo a falta de TTR normal.

Podemos contudo afirmar que a deposição da substância amilóide, precede claramente o início da sintomatologia clínica (Araki S., 1995)

5 - Patologia Molecular na PAF

5.1- Depósitos de Amilóide e Degenerescência das

Fibras Nervosas

Foi postulado que os depósitos de amilóide distorcem os elementos normais do nervo periférico, resultando em morte neuronal (Dick P.J. *et al* 1969; Said G. *et al* 1984). Deste modo, o mecanismo patogénico associado à PAF resultaria da compressão exercida pelos depósitos de amilóide, sobre as fibras nervosas, conduzindo a lesões focais. Contudo, isto explica apenas as características assimétricas observadas em alguns doentes com PAF e não a perda difusa de fibras nervosas, que se verifica mesmo na ausência de depósitos de amilóide substanciais (Sousa M.M. *et al* In Barros J. 2006).

A análise morfológica e morfométrica de biopsias de fibras nervosas de pacientes com PAF foi efectuada com o objectivo de encontrar as lesões iniciais nesta patologia e os seguintes resultados foram apresentados: Apesar de a degenerescência e diminuição da densidade das fibras nervosas serem apenas observadas na presença de depósitos de amiloide no endonervo, evidencias claras de degenerescência causada pelo contacto directo com os depósitos de amiloide, não foram encontradas, sendo que em alguns casos foram encontradas fibras em degenerescência sem a presença de depósitos de amiloide e, noutros, fibras mielinizadas normais em contacto com depósitos de amiloide. Estas observações lançam a dúvida sobre a relação causal entre a deposição de substância amiloide e a degenerescência das fibras nervosas (Sousa M.M. *et al* In Barros J., 2006).

5.2 - Agregados não Fibrilares e Degenerescência das Fibras Nervosas

A existência dos agregados amorfos associados a depósitos fibrilares de amiloide, há muito que foi descrita, contudo ainda é recente a demonstração da deposição de TTR sob a forma de agregados não fibrilares, antecedendo a formação de substância amiloide. No estudo “Deposition of Transthyretin in Early Stages of Familial Amyloidotic Polyneuropathy” foram estudados pacientes portadores assintomaticos da mutação Val30Met utilizando técnicas de imunohistoquímica e coloração com Vermelho do Congo. Verificou-se que nestes pacientes era detectada uma forma de deposição da TTR, aglomerada mas não fibrilar, negativa para vermelho do Congo. A análise imunohistoquímica desta substância veio confirmar estes dados. Este material amorfo, está também presente nas fases mais evoluídas da doença, coexistindo com depósitos fibrilares de TTR (Sousa M.M. *et al* 2001)

O passo seguinte foi demonstrar que os depósitos fibrilares, não são capazes de causar danos celulares e que os agregados não fibrilares são tóxicos e capazes de danificar as células. Os resultados obtidos no estudo, vieram corroborar a hipótese levantada. Efeitos citotóxicos foram detectados com os agregados não fibrilares, enquanto que tanto os depósitos fibrilares, como a proteína solúvel não evidenciaram toxicidade.

O papel dos agregados não fibrilares na patogénese da PAF, pode ajudar a responder a algumas questões, para as quais o mecanismo de compressão das fibras nervosas pelos depósitos de amilóide, já não podia dar resposta (Sousa M.M. *et al* 2001).

6- Propagação da PAF

Desde a descrição inicial de Corino de Andrade do foco da doença na Póvoa de Varzim e Vila do Conde, outros focos se foram configurando, primeiro em Portugal: Figueira da Foz; Unhais da Serra; Cartaxo (Ribatejo) e em seguida outros grandes focos na Suécia (Andersson R., 1976) e no Japão (Araki S., 1968). Estes três países estão geograficamente afastados e a consanguinidade entre diferentes focos da doença ainda não foi identificada, contudo, foi sugerido nomeadamente por Coutinho, que um alelo mutante “de origem portuguesa” possa ter estado na origem da PAF que hoje se encontra espalhada por todo o mundo, nomeadamente, na Suécia, Japão, Europa, América do Norte, do Sul e África (Coutinho P., 1989).

Na imagem seguinte encontra-se representada a distribuição a nível mundial da PAF.



Fig. 1 – Distribuição mundial da PAF. A magnitude dos círculos representados, está relacionado com o número de pacientes em cada localização (Ando Y. *et al* 2005)

6.1- Fundamentação Histórica

“Lançou-se ao vento” que esta disseminação pelo Mundo estaria ligada à viagem de um gene à data dos Descobrimentos Portugueses, às investidas dos Vikings pela Península Ibérica (no caso da Suécia), à emigração portuguesa em países como EUA, França, Brasil, mas nunca foram apresentados dados concludentes (Coutinho P., 1989).

Se uma mutação comum liga os casos portugueses e suecos, há algumas circunstâncias a favor da hipótese da migração do gene mutante se ter dado de Portugal para a Suécia. Os Vikings que habitavam a Escandinávia eram extraordinários marinheiros. A partir do século VIII, começaram a atacar populações da costa do Mar do Norte e, mais tarde, da Península Ibérica. O registo da existência de relações comerciais entre estes dois países é outro factor

que corrobora a proximidade entre o povo português e o sueco. As principais ocupações do povo sueco eram, em tempos primitivos, a agricultura, a caça e a pesca. Para conservar os alimentos, o sal era fundamental. As rotas do comércio do sal entre o continente e o Báltico estabeleceram-se muito cedo, sendo que Portugal era parte importante deste comércio (idem).

Os factos históricos que aproximam o povo português do povo japonês estão relacionados com os Descobrimentos Portugueses e com as estreitas relações comerciais estabelecidas nesta altura, entre os dois países. De entre vários produtos comercializados, os portugueses foram os responsáveis pela introdução das primeiras espingardas no Japão. Num documento datado de 1596-1614 podemos ler: “Posso eu saber o último segredo?”, os bárbaros responderam “Todo segredo consiste nisto: deve-se conservar recto o coração e cerrado um olho”. “se me ensinardes a fundir espingardas dou-vos em recompensa a minha humilde filha” (Coutinho P., 1989).

Como já anteriormente referido, é em 1939 que Corino da Andrade observa pela primeira vez uma paciente de 37 anos com Paramiloidose. Contudo, a existência da PAF, remonta aos primórdios do séc. XIV, na comunidade piscatória das Caxinas. O geneticista Klein “aventa” a hipótese de a mutação ter ocorrido há mais de 500 anos na região da Póvoa de Varzim / Vila do Conde e de o gene mutante ter progredido pelo litoral, estendendo-se até Viana do Castelo a Norte, e até à zona de Buarcos e Figueira da Foz a Sul, de se ter infiltrado para o interior atingindo Unhais da Serra, freguesia do concelho da Covilhã e depois de ter inflectido em direcção a Lisboa (Sousa A., 1995).

De acordo com Coutinho (1989), a alta prevalência da Paramiloidose na Póvoa de Varzim e alguns factos históricos, sugerem que a mutação tenha aqui ocorrido. Alguns dos factos históricos que fundamentam esta hipótese são: a Póvoa de Varzim encontra-se no centro de uma zona piscatória muito rica, cuja área de influência se estende da Galiza à Figueira da Foz. No domínio da Pesca, a Póvoa de Varzim era, no século XVIII, a maior praça de pesca do Norte de Portugal. Um exército de almocreves partia diariamente desta

cidade litoral, fazendo penetrar nas províncias do interior o peixe da Póvoa; no que diz respeito à indústria de construção naval, carpinteiros poveiros eram solicitados pelos estaleiros da Ribeira das Naus em Lisboa, pela sua capacidade técnica; alguns poveiros terão feito parte da tripulação das naus portuguesas. Em épocas de crise ou de fome, o poveiro viu-se obrigado a emigrar. Com a perda da independência de Portugal em 1580, cresceu a emigração para o Brasil, intensificando-se em 1697 com a descoberta do ouro (Coutinho P., 1989).

A Paramiloidose vai então seguindo a viagem dos pescadores ao longo da costa. A penetração para o interior segue as ligações comerciais e agrícolas.

Ainda do ponto de vista de Coutinho, a incidência da Paramiloidose na Serra da Estrela e em Unhais da Serra surgiu devido à existência de uma estância termal famosa no tratamento de patologias Reumatológicas, tendo os doentes portadores de Paramiloidose a ela recorrido na procura de cura para os seus problemas.

A existência de doentes com Paramiloidose no concelho da Covilhã e em Unhais da Serra estiveram, segundo os estudos de Morais (2001), associados a feiras remotas que faziam a ligação com quase todas as localidades do país (Morais A.R., 2001).

6.2- Fundamentação Científica

Até há cerca de 20 anos, acreditava-se que a PAF teria uma ocorrência endémica respeitando uma delimitação geográfica muito concreta (Andrade C., 1952; Ando Y. et al 2005)., contudo e devido aos grandes avanços da bioquímica e genética molecular é hoje aceite que se trata de uma doença disseminada por todo o Mundo.

A presença de pacientes com PAF relacionada com a TTR foi já confirmada em mais de 30 países e a mutação V30M identificada em pacientes em mais de 15 países. Apesar de ainda não estar completamente esclarecido, só a PAF ligada a esta mutação (tipo I, português ou de Andrade) é que apresenta grandes aglomerados de doentes, espalhados pelo mundo. Um estudo epidemiológico realizado na região Norte da Suécia, constatou que numa população de 500 000 pessoas, 7500 eram portadoras da mutação V30M da TTR, contudo, constatou também que esta mutação apresentava, nesta população, uma penetrância de apenas 2%. No Japão, mais de 350 doentes com PAF foram encontrados nas cidades de Arao, distrito de Kumamoto, e Ogawa, distrito de Nagano (Ando Y. *et al* 2005). Em Portugal, até Dezembro de 2003 foram observados no CEP, 2093 doentes, correspondendo a 583 famílias, aparentemente não relacionadas entre si.

A hipótese lançada, de que a mutação V30M da TTR teria origem em Portugal e daí ter-se-ia disseminado pelo mundo, fundamentou-se essencialmente em dados epidemiológicos e em relações históricas bem conhecidas.

Contudo, um estudo levado a cabo por Ohmori *et al*, comparando haplótipos em diversos focos de doença em todo o mundo, descobriu que a mutação V30M, disseminada por países como Portugal, Japão, Espanha, tem de facto uma mutação ancestral de origem comum. É então concebível a hipótese de existir um fundador comum para pacientes Portugueses e Japoneses, para pacientes Portugueses e Espanhóis, mas não para pacientes Suecos e de outras nacionalidades (Ohmori H., 2004).

Estes dados, associados aos dados históricos e epidemiológicos anteriormente referidos, corroboram a hipótese de a mutação ter de facto origem em Portugal (*idem*).

7- Clínica e História Natural da PAF

De entre os mais de 100 pontos de mutação ou deleção no gene da TTR, 13 correspondem a formas não patogénicas. As restantes mutações amiloidogénicas, induzem no paciente, uma forma de PAF, que pode apresentar alguma heterogeneidade clínica. A maioria das mutações da TTR podem ser classificadas como neuropáticas, envolvendo o SNP, sendo que a mutação V30M da TTR, responsável pela PAF tipo I (tipo português ou de Andrade) é a mais comum (Ando Y. *et al* 2005).

Existem contudo, algumas mutações da TTR que não são responsáveis por alterações neuropáticas, mas que induzem outro tipo de alterações, como: cardiomiopatia; deposição de TTR no Vítreo; envolvimento Leptomeningeo (*idem*).

7.1- Idade de Início

A PAF tipo I manifesta-se na idade adulta, verificando-se alguma variação intra-familiar, na idade de início. Na forma portuguesa da doença, a idade de início é precoce, em média $33,5 \pm 9,5$ anos, caracteriza-se por uma penetrância completa (nos focos da doença inicialmente descritos) e mostra um efeito de antecipação, podendo o gene passar mais do que uma geração sem se expressar clinicamente ou haver um efeito cumulativo da antecipação (Ando Y., 2005; Tashima K. *et al*, 1995).

As formas de início tardio (após os 50 anos de idade), tendem a ocorrer fora dos focos de doença inicialmente descritos como endêmicos e manifestam penetrância incompleta. Nestes casos os sintomas podem não ser aparentes mesmo em pacientes na sexta e sétima década de vida (Araki S., 1995).

Na Suécia, os casos descritos apresentam início tardio e penetrância muito reduzida. No Japão, foram descritos (nas cidades de Arao e Nagano, já anteriormente referidas) quadros clínicos semelhantes, mas com formas de início precoce.

A “dosagem genética”, parece não afectar a idade de início da expressão clínica da doença, dado que indivíduos homozigóticos podem apresentar-se assintomáticos, até a idades tardias.

Importa sublinhar, alguns aspectos referidos anteriormente: há influência entre o sexo do progenitor transmissor da doença e a idade de apresentação da mesma, conduzindo a transmissão materna a um início mais precoce e a paterna a um início mais tardio; os filhos de mães com esta doença, manifestam-na mais cedo, enquanto que as filhas de pais com a doença, a manifestam mais tardiamente; e por último, as mulheres manifestam a doença mais tardiamente (Araki S., 1995).

7.2- Manifestações Clínicas

O quadro clínico da PAF caracteriza-se por uma severa e progressiva polineuropatia mista, sensitiva, motora e autónoma, em que o sistema nervoso autónomo, é atingido em proporções raramente observadas em outras doenças hereditárias e que conduz à morte em 10 a 20 anos. A progressão da doença é sempre ascendente, fenómeno conhecido por *dying-back*, degenerescência histocelular distoproximal, iniciando-se das extremidades distais dos membros, para as extremidades proximais, atingindo primeiro os membros inferiores e só

depois os superiores, motivo pelo qual é também denominada “Doença dos Pézinhos”. (Conceição I., In Barros J. *et al* 2006).

A PAF apresenta um início tão insidioso e mal definido, que se torna impossível precisar a data do começo das queixas. A valorização dos sintomas pelos doentes paramiloidóticos, está muitas vezes alterada, pelo facto de se tratar de uma doença associada à transmissão genética e hereditária. Muito antes de “sentirem os sintomas”, já os conhecem, os esperam e hiper-valorizam. Na página abaixo estão representados alguns dos sintomas da PAF Tipo I em termos percentuais, de acordo com um estudo realizado por Ando Y. *et al*, 1993.

1) Neuropática

Distúrbio sensitivo superficial com dissociação
 Atrofia muscular
 Dor esporádica nos membros inferiores
 Alterações da pupila
 Alterações da pele
 Hipostesia do tronco
 Extremidades frias
 Rouquidão

2) Autonómica

Distúrbios Urológicos
 Diarreia
 Obstipação
 Hipotensão ortostática
 Impotência
 Desidrose
 Náuseas

3) Gerais

Anemia
 Perda ponderal
 Arritmia
 Edema da pele
 Queimaduras

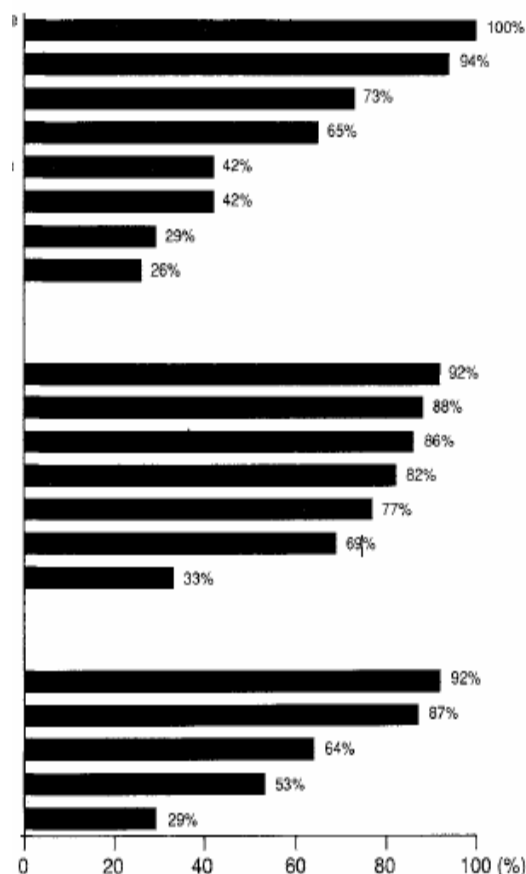


Fig. 2 - Manifestações clínicas da PAF Tipo I (Ando Y. *et al* 1993)

7.2.1- Perturbações Sensitivas

Quando precoces, são subjectivas e caracterizadas por parestesias das extremidades dos membros inferiores, especialmente do hálux, restantes dedos e superfícies plantares. São descritas como sensação de formigueiro, fisgadas e picadelas. Mais tarde, aparecem as hipostesias, que afectam a sensibilidade térmica, dolorosa e táctil. Com a progressão da doença, as queixas parestésicas vão-se intensificando até ao tronco, deixando as extremidades em anestesia completa (Coutinho P., 1976).

Progredindo das extremidades até ao tronco, podemos encontrar: área de completa anestesia; área de anestesia dolorosa, térmica e hipostesia táctil; área com zonas em que se verificam perturbações da sensibilidade térmica (idem).

7.2.2- Perturbações Motoras

Surgem cerca de 1 a 2 anos, após as perturbações sensitivas, têm contudo um carácter igualmente ascendente. Iniciam-se no hálux e vão-se estendendo para os músculos antero-laterais da perna. Este fenómeno, condiciona a marcha do indivíduo, que começa a caminhar apoiando a extremidade anterior do pé, sem conseguir apoiar os calcanhares. Esta marcha é denominada de *steppage*. Esta perturbação vai progredindo até aos músculos intrínsecos das mãos, conduzindo a uma atrofia muscular incapacitante (Coutinho P. et al, 1976).

Numa fase mais tardia, os doentes podem apresentar paresias, atrofias e fasciculações nos músculos dependentes dos últimos pares cranianos. Os reflexos osteotendinosos vão

desaparecendo com o curso da doença. Os primeiros a serem atingidos são os reflexos aquilianos, rotulianos e os reflexos da flexão dos dedos da mão, até atingirem uma fase de total arreflexia osteotendinosa (*idem*).

As alterações referidas ao membro inferior surgem mais tardiamente no membro superior, estabelecendo a neuropatia em forma de luva e peúga (*idem*).

As lesões tróficas surgem, por norma, numa fase tardia da doença, com o aparecimento de úlceras que acometem principalmente os pés e necroses ósseas. Estas úlceras estão relacionadas com fenómenos de hipostesia térmica e dolorosa do sistema nervoso periférico (*idem*).

7.2.3- Perturbações Autonómicas

A disfunção do Sistema Nervoso Autónomo nos doentes com este tipo de perturbação antecede geralmente as manifestações da neuropatia sensitivo-motora. Apesar das perturbações motoras e sensitivas dominarem o quadro neurológico, a disfunção autonómica altera o funcionamento vários órgãos, com enorme impacto na vida do doente paramiloidótico.

As manifestações clínicas mais comuns, resultantes da perturbação do sistema nervoso autónomo são: cardiovasculares, gastrointestinais, oftalmológicas e nefrológicas (Ando, Y. *et al*, 2005).

7.2.4- Manifestações Cardiovasculares

A PAF é caracterizada por uma cardiopatia com perturbações na condução cardíaca, que provoca alterações electrocardiográficas, com perturbações no automatismo e na condução cardíaca, sem apresentar sinais e sintomas de insuficiência cardíaca congestiva (Andrade et al, 1969).

Para melhor caracterizar o envolvimento cardíaco nestes doentes, foi realizado em Portugal, por Fonseca e col., um estudo com 110 doentes paramiloidóticos. Este estudo teve como base a análise do traçado electrocardiográfico, Ecocardiograma e Holter (Coutinho C. A., In Barros J., 2006). No que diz respeito à análise dos dados relativos ao Ecocardiograma constatou-se que: em 30,5% dos doentes não foram detectadas quaisquer alterações; em 54% dos registos foi identificado hiperecogenicidade ou disfunção diastólica; alteração do relaxamento ventricular, em fases ainda precoces da doença; e aumento da espessura das paredes ventriculares, em fases mais evoluídas (idem).

Relativamente aos dados obtidos através do Holter, verificou-se: que a perturbação do ritmo é muito frequente, com apenas 16% dos registos normais, em regra antecedendo as alterações ecocardiográficas.

Um outro estudo, efectuado por Carvalho e col. envolvendo 212 doentes com PAF, demonstrou uma modificação do padrão normal da variação circadiana da tensão arterial. Nas Fases iniciais da doença verificou-se um amortecimento da normal descida da tensão arterial durante o período da noite. Nas fases mais evoluídas, ocorreu mesmo uma inversão do padrão circadiano, com tensões arteriais nocturnas superiores às registadas durante o dia (idem)

Tanaka e col. realizaram um estudo em 12 doentes com PAF, sem qualquer evidência de envolvimento cardíaco, utilizando a Cintigrafia com MIBG-I¹²³ (método que permite

avaliar, de forma não invasiva, a função nervosa adrenérgica) e constataram que 8 desses doentes apresentavam uma ausência total de captação de MIBG-I, e nos restantes 4 doentes, a actividade restringia-se à parede anterior do ventrículo esquerdo. Como a diminuição da actividade cardíaca de MIBG, em doentes com disautonomia, está associada a desinervação miocárdica, conclui-se que a desinervação adrenérgica cardíaca é uma das alterações mais precoces, antecedendo as manifestações clínicas da Polineuropatia (idem).

Através da análise dos estudos supracitados foi possível concluir que as alterações cardíacas mais precoces são as que estão relacionadas com a disautonomia, antecedendo muitas vezes as manifestações neurológicas e as de miocardiopatia infiltrativa.

7.2.5- Manifestações Gastrointestinais

As perturbações gastrointestinais, são de uma maneira geral atribuídas à neuropatia autonómica. São constantes e precoces, constituindo uma das alterações mais relevantes da Paramiloidose. As manifestações mais frequentes são as relacionadas com a alteração do trânsito intestinal: obstipação e diarreia. Primariamente surge a obstipação, com duração de uma a duas semanas, seguindo-se um período de alternância entre obstipação e diarreia e, finalmente, diarreia persistente por vezes com incontinência fecal. Outros sintomas referidos são: vómitos, náuseas, distensão abdominal e eructações fétidas. Estes distúrbios gastrointestinais fazem com que a desnutrição se vá estabelecendo e a perda ponderal aumentando, de tal modo que a caquexia se torna numa das principais causas de morte (Costa P.P. *et al* 1990; Saraiva M.M., In Barros J. 2006).

7.2.6- Manifestações Cutâneas

Estas perturbações são muito comuns numa fase mais tardia da doença. Podem ir desde simples atrofias da pele até à ulceração da superfície plantar, com necrose das extremidades ósseas, que podem resultar em amputações. Quando se instalam as úlceras cutâneas, o seu processo de cicatrização é lento e difícil (Pinho e Costa, 1986).

7.2.7- Manifestações Renais

A relação causa-efeito entre a deposição de amiloide e a disfunção do órgão tem sido assumida na amiloidose renal, particularmente quando há envolvimento glomerular e vascular. As alterações renais embora estejam frequentemente presentes numa fase mais avançada da doença podem estar presentes no momento do diagnóstico, em 25 a 40% dos casos. Na amiloidose podemos encontrar alterações estruturais na membrana basal glomerular e expansão mesangial. Parece existir alguma afinidade entre as lesões renais da amiloidose e as da diabetes (Lobato L. *et al* 2003). Tal como outras amiloidoses, a associada à TTR tem como expressão renal proteinúria de grau variável (evoluindo para nível nefrótico em cerca de metade dos casos) e insuficiência renal crónica. As manifestações renais progridem da microalbuminúria numa fase precoce da doença, podendo surgir mesmo antes da neuropatia, proteinúria significativa e ($> 0,3\text{g/L}$) com síndrome nefrótica e evolução para insuficiência renal com necessidade de hemodiálise numa fase terminal da doença. O declínio da função

renal estabelece-se rapidamente no ano que antecede a insuficiência renal crónica terminal e a hipervolemia constitui a principal indicação para iniciar diálise (Lobato L. *et al* 2004).

7.2.8- Manifestações Oculares

As manifestações oculares apresentam incidência crescente à medida que a doença progride, podendo evoluir mesmo após o transplante hepático.

São várias as alterações oculares associadas à PAF tipo I: anormalidades dos vasos conjuntivais, queratoconjuntivite seca, úlceras da córnea, anormalidades pupilares, glaucoma, opacidades vítreas, entre outras (Ando E. *et al* 1997).

De entre as alterações mais precoces, destacam-se os vasos conjuntivais dilatados e tortuosos e o olho seco. Este fenómeno é explicado pelo envolvimento precoce das fibras desmielinizadas do sistema nervoso autónomo, associando-se mais tardiamente a deposição de substância amilóide na glândula lacrimal (Beirão M.).

As opacidades vítreas e o glaucoma surgem mais tardiamente, de um modo geral em doentes com sintomatologia há mais de cinco anos. Podem ocorrer subidas bruscas da tensão ocular, com perda rápida e irreversível da visão. As opacidades vítreas resultam do depósito local de amilóide e manifestam-se por diminuição da acuidade visual (*idem*).

7.2.9- Manifestações Sexuais

Em relação às manifestações sexuais, a impotência, é nos homens, um sintoma precoce e constante, motivando muitas vezes a primeira consulta. Por vezes, é interpretada como tendo origem psicossomática, e só o aparecimento de outros sintomas e história familiar, permitem enquadrar esta manifestação no quadro clínico da PAF (Freitas A.F. 1976).

Inicialmente, o orgasmo, a libido e a ejaculação, estão preservados, mas acabam por desaparecer na fase final (idem).

Nas mulheres, estas manifestações são mais discretas, e limitam-se à perda progressiva da capacidade de atingir o orgasmo (idem).

Não se observam alterações sexuais secundárias, mas a azoospermia tem sido verificada em alguns doentes (Costa P.P., 1990).

8- Estádios da Doença

De acordo com Coutinho et al, citado por CARVALHO (2001), a PAF pode ser submetida, ao longo do seu curso, a uma divisão em 3 estádios: O Estádio I, Estádio II e o Estádio III.

O Estádio I tem uma duração média de 5 a 6 anos, período de tempo em que a doença se limita a atingir os membros inferiores, embora o paciente ainda caminhe sozinho e sem ajuda. Num exame mais pormenorizado, pode aparecer, frequentemente, ligeira fraqueza do extensor do hálux bilateralmente, ausência de reflexo aquiliano e alguma dificuldade em executar a posição de calcanhares. Existe também uma diminuição significativa da

sensibilidade térmica e dolorosa, enquanto que a sensibilidade táctil e profunda, se mantêm inalteradas.

No que diz respeito ao Estádio II, este caracteriza-se pelo atingimento motor progressivo dos membros inferiores com marcha característica (*Stepagge*) e por amiotrofias distais. Ocorre também diminuição da força muscular das mãos e diminuição da sensibilidade térmica e dolorosa, nos membros inferiores e tronco. A sensibilidade táctil começa a ser atingida, havendo diminuição principalmente nas pernas e nos pés. Alguns casos desenvolvem diminuição grave da sensibilidade profunda dos membros inferiores. Neste estágio, o doente já se encontra incapacitado, mas ainda se consegue mover, precisando no entanto de ajuda. Tem a duração média de 4 a 8 anos, dando finalmente lugar a um estágio terminal.

No Estádio III, o doente encontra-se acamado ou numa cadeira de rodas, apresentando, de uma forma generalizada, fraqueza muscular, atrofia e arreflexia. Apenas a cabeça e o pescoço têm sensibilidade térmica e dolorosa, e a sensibilidade táctil está diminuída. Este estágio tem uma duração média de 2 a 3 anos, levando, inexoravelmente, à morte por caquexia ou por infecções secundárias.

9- Diagnóstico

Durante muitos anos o diagnóstico da Paramiloidose assentou na simples configuração de um quadro clínico típico, associado a uma história familiar sugestiva e na biopsia da pele e nervos demonstrando a presença de depósitos de amilóide (Conceição I., 2006).

Com a descoberta do erro genético e bioquímico (a mutação V30M da TTR), o diagnóstico pôde ser confirmado pela pesquisa da proteína mutante através da análise sanguínea (ANDO Y. *et al* 2005).

A identificação da proteína mutante pode ser processada através de duas técnicas, immunoblot ou ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) (Coelho T., 2003).

Segundo Costa, (Costa P.P., 1999) o teste preditivo da pesquisa da TTR V30M é bastante fiável. O facto de na nossa população só se conhecer uma única mutação, sendo raríssima a ocorrência de novas mutações, faz com que a possibilidade de erro se restrinja à possibilidade de erros técnicos na colheita de sangue, execução da análise ou na transmissão do resultado.

O diagnóstico de casos isolados, especialmente quando o quadro clínico não é muito sugestivo, coloca um grau superior de dificuldade. Felizmente, o recurso cada vez mais frequente aos estudos histopatológicos conduzem, mesmo quando a hipótese diagnóstica não foi colocada, ao esclarecimento de alguns desses casos (Costa P.P., 1999).

A 28 de Outubro de 1998, por imposição ministerial nº 981/97, o pedido do teste preditivo passou a ter de ser acompanhado de um relatório médico, onde constem os dados que fundamentam a suspeita da doença, devendo ser confirmado pelo Director do Centro de Saúde e pelo Coordenados da Sub-Região de Saúde, ou pelo Director de Serviço e pelo Director Clínico nos estabelecimentos hospitalares. As pessoas que pretendem realizar o diagnóstico pré-sintomático, necessitam também de estar sob acompanhamento, numa consulta de genética, para que o teste possa ser realizado.

Segundo, Pereira (1999) a obrigatoriedade de realizar todos estes procedimentos, funciona como um factor de inibição nos utentes, o que dificulta o trabalho de prevenção e conhecimento real do número de portadores de Paramiloidose.

Para Lobão (2003), o consentimento informado é o cumprimento do dever de respeitar um direito autónomo do doente à livre determinação em matéria de saúde. Deste modo, o

doente dá o seu consentimento informado se for competente para agir, se receber informação completa, se compreender essa mesma informação, se decidir voluntariamente, e finalmente, se consentir a intervenção.

A análise que permite confirmar a presença de substância mutante no sangue, teste pré-sintomático, só pode ser realizado em indivíduos com mais de 18 anos e com consentimento (Pereira S., 1999).

Dado que a Paramiloidose é uma doença progressiva, que altera significativamente a qualidade de vida pessoal, social e profissional do doente, o seu diagnóstico precoce assume uma importância incontestável.

O diagnóstico precoce nos doentes em risco é efectuado, segundo Luís (1999), através de um estudo neurofisiológico (electromiograma e estudos de condução nervosa periférica), no qual se analisa o sistema nervoso autónomo, estando ainda despertos para o aparecimento de diarreias, emagrecimento, perda de proteínas na urina, infecções urinárias de repetição e hipotensão arterial postural. Em doentes que não têm história familiar de Paramiloidose, deve-se dar especial ênfase aos sintomas descritos, procurando-se posteriormente a causa destes através de uma investigação mais aprofundada, que pode passar pela biopsia da pele e/ou nervo (para pesquisa de amilóide) e a caracterização da TTR circulante. Este procedimento permite acompanhar de forma adequada o doente e a família.

Actualmente é permitido aos doentes paramiloidóticos constituir descendência com um risco reduzido de estes serem portadores da doença. Isto é possível graças a duas técnicas: o diagnóstico genético pré-implantatório e o diagnóstico pré-natal.

O diagnóstico pré-natal tem como objectivo identificar os fetos portadores da doença, na condição de uma possível interrupção da gravidez, sendo necessário o prévio consentimento informado dos progenitores. Este é realizado através de uma amniocentese, que permite detectar a proteína anormal (TTR Met30), às 14/16 semanas de gestação (CEP, 2004).

O diagnóstico genético pré-implantatório (DGPI) é realizado em embriões obtidos por fertilização *in vitro* ou por micro-injecção intraplacentária. Aos embriões são removidas uma ou duas células (blastómeros), por biopsia, no seu terceiro dia de desenvolvimento e posteriormente avaliados, na tentativas de diagnosticar uma patologia genica por Polymerase Chain Reaction (PCR), ou cromossómica por Fluorescent In Situ Hybridization (FISH). Os embriões geneticamente normais (no que respeita à patologia estudada) são depois transferidos (Barros A. 2000).

A exequibilidade técnica deste procedimento (DGPI) aplicado à PAF, foi estabelecida e apresentada internacionalmente em Junho de 1999 na Suécia (*idem*).

A principal limitação deste procedimento, assenta no facto de só poderem ser retiradas uma ou duas células do embrião, pelo que o rigor diagnóstico não pode ser igual ao permitido pelo diagnóstico pré-natal obtido por amniocentese às 14/16 semanas (*idem*).

Deste modo, é consensual que o diagnóstico pré-natal por amniocentese é recomendado em todos os casos (*idem*).

Apesar desta limitação, perspectiva-se um aumento crescente da prática de DGPI, porque permite a redução das interrupções da gravidez, consequentes à detecção de patologia fetal, por amniocentese (*idem*).

10- Tratamento

10.1- Princípios Gerais da Abordagem ao Doente com PAF

O contexto da assistência clínica aos doentes paramiloidóticos, mudou muito desde a introdução do transplante hepático como tratamento etiológico da PAF. Os doentes têm agora, uma perspectiva de vida mais longa e com melhor qualidade. Contudo, continuam a ser doentes crónicos, que consigo transportam múltiplas incapacidades e como tal, necessitam de tratamento. (Coelho T. 2006)

O transplante hepático veio retirar à PAF, o seu carácter progressivo e necessariamente fatal. Veio também acrescentar outros riscos e problemas.

Para além desta problemática, não podemos esquecer que uma percentagem considerável de doentes, não quer ou não pode ser transplantada.

Uma adequada abordagem a este tipo de doentes, carece de uma equipa multidisciplinar, preparada e motivada para dar resposta aos mais diversos problemas que vão surgindo. Só assim é legítimo lançar o desafio ao doente com PAF, de se manter activo e participativo, na sua vida familiar, profissional e social, com uma atitude positiva, ultrapassando os défices e dificuldades à medida que vão surgindo.

Os doentes devem ser ensinados a viver com os seus problemas, minorando-os e prevenindo complicações. Estes são alguns dos cuidados que aos doentes com PAF devem ser ensinados:

- Promover uma alimentação adaptada à patologia, contrariando a anorexia, o enfartamento, a obstipação ou a diarreia. Uma melhoria do estado geral, ainda que diminuta, pode, nestes doentes ser crucial.

- Prevenir queimaduras e feridas. A neuropatia sensitiva associada à neuropatia autonómica com alteração da vasomotricidade periférica, predispõe à ocorrência de queimaduras graves e outras lesões.

- Proteger o olho. A neuropatia autonómica, associada à deposição de substância amilóide na glândula lacrimal conduz à ausência de lágrimas na superfície ocular, fenómeno que está associado ao desenvolvimento de úlceras da córnea.

A utilização de lágrimas artificiais e o encerramento do olho podem mostrar-se decisivas na prevenção deste problema.

- Controlar a hipotensão ortostática. Os doentes devem ser ensinados a levantar-se devagar, a evitar refeições abundantes, a repor perdas hídricas, a elevar a cabeceira da cama, na tentativa de combater a hipotensão ortostática.

- Prevenir o agravamento da bexiga neurogénea e as infecções urinárias. Como os doentes deixam de sentir necessidade de esvaziar a bexiga, tendem a acumular volume em excesso. É portanto necessário promover o esvaziamento regular e completo da bexiga.

- Manter a actividade física. O exercício agrava a dor neuropática. É por isso necessário um forte trabalho de motivação, junto destes doentes, para que façam algum exercício físico, ainda que por curtos períodos, mas de forma regular, atrasando desse modo a perda de forças e prevenindo os problemas associados ao sedentarismo (idem).

10.2- Tratamento Medicamentoso

A multiplicidade de aparelhos e sistemas atingidos no doente Paramiloidótico obriga a que, a escolha de qualquer medicamento tenha de ser precedida de uma cuidadosa reflexão, a cerca dos efeitos colaterais, sobretudo devido ao envolvimento do sistema nervoso autónomo, característico nesta doença (Coelho T. 2006).

10.2.1- Tratamento da Dor Nevralgica

Para tratar a dor nevrálgica pode ser usada a gabapentina, em doses crescentes, podendo atingir as 2g/dia, ou a pregabalina, com indicação nos casos de intolerância á gabapentina, já que esta apresenta maior comodidade posológica e menos efeitos colaterais.

Os opiáceos e antidepressivos tricíclicos devem ser evitados dado o envolvimento do sistema nervoso autónomo nesta doença. Não obstante, nos casos em que a ansiedade e a depressão parecem limitar o efeito dos anti-epilépticos, a associação de um antidepressivo sem efeito anti-colinérgico ou um ansiolítico com acção sobre a dor, melhoram a sintomatologia e proporcionam um sono mais tranquilo (Coelho T. 2006).

10.2.2- Tratamento da Dismotilidade Digestiva

Nos períodos de agravamento das queixas digestivas, particularmente quando surgem vômitos incoercíveis, deve ser administrada a metoclopramida.

Estas crises podem ser o reflexo de distúrbios de ansiedade ou depressão, pelo que a abordagem terapêutica destes aspectos tem um efeito indirecto positivo, no tratamento dos distúrbios digestivos.

No tratamento de episódios de diarreia, pode ser utilizada a loperamida, em doses adaptadas à sintomatologia (Coelho T. 2006).

10.2.3- Tratamento da Hipotensão Ortostática

A hipotensão ortostática melhora com a utilização de midodrine em doses crescentes, até três ou quatro comprimidos diários. A acção deste fármaco é potenciada pela associação com a fludrocortisona, algo que só é possível nos doentes que a toleram (Coelho T. 2006).

10.3- Transplante Hepático

O transplante hepático, como terapia etiológica para a PAF iniciou-se em 1990 na Suécia, no Hospital de Huddinge, Instituto Kurolinska de Estocolmo.

A ideia da substituição de um fígado anatómica ou funcionalmente anormal, por um outro, saudável, já desde 1963 que era posta em prática em diversas patologias, contudo só três décadas mais tarde é que surgiria como técnica aplicável na PAF.

A TTR é produzida quase exclusivamente pelo fígado, sendo uma pequena parte produzida no epitélio pigmentar da retina e nas células epiteliais dos plexos coroídeos. Este facto, associado à redução dramática dos níveis de TTR anormal no soro dos primeiros pacientes transplantados e a resposta clínica favorável que demonstravam, levou ao estabelecimento do transplante hepático como técnica terapêutica utilizada de forma regular, na tentativa de parar a progressão da doença (Furtado E. 2006).

Os transplantes hepáticos em doentes com PAF começaram a ser realizados em Portugal, no ano de 1992, nos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC) e no Curry Cabral de Lisboa, juntando-se posteriormente o Hospital Geral d santo António do Porto.

Actualmente ocorrem em Portugal, cerca de metade dos transplantes hepáticos por PAF realizados em todo o Mundo (idem).

Foi também em Portugal, nomeadamente nos Hospitais da Universidade de Coimbra, que teve início a transplantação em dominó. Neste procedimento, o fígado excisado ao doente paramiloidótico serve de enxerto para transplante hepático num doente com hepatopatia terminal (Takei Y. *et al* 2005).

Importa realçar que o fígado do doente com PAF é anatomicamente normal, mas funcionalmente anómalo. Contudo a produção de TTR Val30Met é tardia, tornando este fígado, muito útil ao paciente com doença hepática terminal.

Foi realizado um estudo prospectivo envolvendo 25 doentes com PAF, seguidos por um período de tempo superior a dois anos, após realização de transplante hepático. Foram analisados quantitativamente marcadores clínicos, electrofisiológicos, morfológicos e feita uma avaliação das complicações pós-transplante e dos factores que influenciam o prognóstico dos doentes submetidos a transplante hepático (Adams D. *et al* 2000).

Os resultados obtidos confirmaram a rápida e contínua descida dos níveis de TTR Val30Met, no soro dos pacientes transplantados (idem).

Na maioria dos pacientes, os défices neurológicos não progrediram. Estes resultados contrastam com o carácter progressivo e irreversível, característico da PAF (idem).

Quanto à função motora e à disfunção autonómica, os resultados são menos encorajadores, não tendo sido detectadas quaisquer melhorias (idem).

Verificou-se em quatro doentes, uma redução da área em que se fazia notar a neuropatia sensitiva (idem).

A biopsia dos nervos sensitivos mostrou uma redução dramática da perda de fibras nervosas sensitivas em doentes transplantados, quando comparados com um grupo controlo de doentes com PAF, não transplantados (idem).

Apesar da transplantação hepática, verificou-se um agravamento dos défices em 40% dos doentes, especialmente naqueles que já apresentavam comprometimento da marcha, no momento do transplante. Esta deterioração verificou-se, na quase totalidade dos pacientes, apenas no primeiro ano após o transplante hepático. Foi lançada uma hipótese explicativa, para este fenómeno. O agravamento dos sintomas poderá ser explicado pela deposição de TTR formada no epitélio retiniano, ou então de TTR não fibrilhar já existente aquando do transplante (idem).

Nos pacientes observados neste estudo, o estado avançado de neuropatia sensitiva, motora e autonómica e a presença de incontinência urinária, foram os principais factores de risco para mortalidade pós transplantação.

Concluiu-se também, não existir vantagem em avançar para o transplante em pacientes com neuropatia sensitivo-motora severa, por a taxa de sobrevivência aos 5 anos ser semelhante à do grupo controlo (idem).

A existência de envolvimento cardíaco, no doente transplantado parece ser um factor associado a mau prognóstico.

As fontes mais fidedignas para a apreciação dos resultados da transplantação hepática em doentes paramiloidóticos são o “Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Register” e o “European Liver Transplant Registry”. Dos 1147 transplantes aí contabilizados, 499 foram realizados em Portugal.

De uma análise feita a estes dados e objecto de uma comunicação em Kyoto (2004), importa destacar (Furtado E. 2006):

- A sobrevida aos 5 anos após o transplante hepático por PAF, subiu de 60% no período de 1990 a 1994, para 90% no período de 1999 a 2003.
- 80% dos transplantes hepáticos foram efectuados em portadores da mutação TTR Val30Met, sendo a sobrevida nestes pacientes, 20% superior àquela verificada nos portadores de outras mutações.
- Destacam-se três factores de prognóstico em relação à mortalidade pós-transplante:
 1. Sintomatologia inicial – neuropatia periférica e autonómica (pior na segunda).
 2. Duração da sintomatologia – inferior ou superior a 7 anos.
 3. Estado nutricional – avaliado pelo índice de massa corporal modificado ($IMC_{mod} = \text{peso}/\text{altura}^2 * \text{alb}$).
- Regista-se melhoria dos sintomas sensoriais, motores, gastrointestinais e do estado nutricional em cerca de 35% dos casos.

10.4- Novos Desafios no Tratamento da PAF

Apesar dos resultados positivos obtidos pela introdução do transplante hepático, alguns problemas persistem, tais como:

- Custo elevado implicado.

- A obrigatoriedade de realizar terapia imunossupressora de forma vitalícia.

- A impossibilidade de realizar transplante hepático em doentes portadores mas não sintomáticos, ou em pacientes com estado avançado da doença.

- A persistência da produção de TTR anormal, pelo epitélio retiniano.

Por todos estes motivos, novas estratégias de combate à PAF, são necessárias. Algumas das estratégias que estão neste momento a ser desenvolvidas, seguem em alguns aspectos, aquelas utilizadas noutras amiloidoses: impedir a agregação das fibrilhas ou formação de novos depósitos e promover a disrupção dos depósitos de amilóide já estabelecidos (Luís M.L.S., In: Barros J. *et al* 2006).

Neste sentido, destaco dois estudos efectuados. Um que comprova a eficácia de uma Tetraciclina, a Doxiciclina, na degradação completa das fibras de amilóide e outro que consiste numa técnica de imunização, através da qual, o organismo passa a reconhecer os depósitos de amilóide, como material estranho, degradando-os.

10.4.1- Imunização na PAF

De uma forma geral, o sistema imunitário dos mamíferos, não produz anticorpos contra peptideos ou proteínas intrínsecas. Existe um sistema de tolerância imunitária.

Num estudo realizado *in vivo*, com ratos transgénicos, estes princípios foram desafiados.

O processo consistiu na imunização com TTR Y78F (substituição de uma fenilalanina por uma tirosina), de ratos transgénicos portadores da mutação TTR V30M, com idades

seleccionadas de forma a estarem presentes depósitos não fibrilares ou depósitos de TTR estabelecidos. A proteína TTR Y78F tem a capacidade de alterar a sua conformação, expondo então uma região, que funciona como antigénio, é detectada por um anticorpo monoclonal, altamente específico para material amiloidogénico, activando-o. Aumenta a produção deste anticorpo, passando o organismo a ter capacidade para degradar o material amiloidogénico, por acção de fagócitos.

Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que, a imunização com TTR Y78F reduziu drasticamente a deposição de amilóide e degradou os depósitos de amilóide estabelecidos em ratos transgénicos, com PAF, através da activação de fagócitos.

Não se observou qualquer alteração fisiológica nefasta para o organismo, apenas as consequentes à presença de TTR anormal e depósitos de amilóide.

Dada esta técnica não ter apresentado qualquer efeito nocivo para os ratos, a sua aplicação em humanos, pode estar para breve.

Esta terapêutica beneficiará especialmente, aqueles que apresentam uma acentuada deposição de substância amilóide nos tecidos e terá a enorme vantagem de poder ser utilizada em doentes portadores da doença, numa fase assintomática, recorrendo a um processo semelhante à vacinação.

Os doentes já transplantados não beneficiarão desta terapêutica, visto estarem obrigados a realizar terapia imunossupressora (Terazaki H. *et al* 2006).

10.4.2- Doxíciclina no Tratamento da PAF

Já foi descrito anteriormente, que os depósitos de amilóide apresentam afinidade selectiva para o Vermelho do Congo e birrefringência verde maçã na deflexão da luz polarizada.

Nos estágios precoces da PAF existem já, agregados de TTR, não fibrilares, negativos para a coloração com Vermelho do Congo.

Em estádios mais avançados, estes agregados, coexistem com depósitos maduros de material fibrilar, depósitos de amilóide.

Várias moléculas têm sido testadas, na tentativa de apurar o seu potencial para impedir a formação de fibrilas de amilóide. Algumas destas moléculas têm-se mostrado capazes de o fazer, a partir de diferentes precursores amiloidogénicos, deixando entrever um mecanismo comum na formação da substância amilóide.

As tetraciclina afectam nos mamíferos, diversas funções celulares, incluindo a proliferação celular, a apoptose, a migração e a remodelação.

Recentemente foi demonstrado que as tetraciclina têm o poder de degradar, *in vitro*, fibrilas de amilóide, apesar de não inibirem a sua formação até determinado estadio.

Outros estudos têm implicado as tetraciclina, como agentes no tratamento das amiloidoses. Como se trata de um grupo de antibióticos com um perfil seguro, poderão ser utilizados como potencial tratamento das amiloidoses.

Um estudo realizado no Instituto de Biologia Molecular e Celular do Porto, levado a cabo pela equipa da Dra. Maria João Saraiva, analisou o efeito do tratamento com doxiciclina (uma tetraciclina) em ratos transgénicos, portadores da mutação Val30Met.

Verificou-se que a doxiciclina foi capaz de degradar os depósitos de amilóide maduros instalados, visto que através da análise tecidual, em animais tratados com a droga, não se detectaram as características tinturiais específicas para a substância amilóide, após coloração com Vermelho do Congo.

Em contraste, em 81% dos animais não tratados, foram detectados, pelo mesmo método, depósitos de amilóide.

Foi também concluído que a doxiciclina não é capaz de actuar sobre os agregados não fibrilares. A carga de TTR não fibrilhar, detectada, foi igual nos dois grupos. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos in vitro, mencionados anteriormente.

Este estudo evidenciou, pela primeira vez, os efeitos benéficos da doxiciclina na PAF, in vivo, promovendo assim, esta droga como uma promissora molécula no tratamento desta e de outras amiloidoses (Cardoso I. 2006).

11- Dados Estatísticos

Em Portugal, o registo dos doentes com polineuropatia amiloidótica familiar tem sido realizado, desde 1939, no Centro de Estudos de Paramiloidose, no Porto sob a responsabilidade dos médicos do Hospital Geral de Santo António e do secretariado do CEP.

A distribuição geográfica das famílias e dos doentes tem como base a sua origem, ou seja, o concelho de nascimento do antepassado mais remoto descrito como afectado ou identificado como transmissor, quando a doença não se conhece nas gerações anteriores, a origem é atribuída ao concelho de nascimento do próprio, ou de ambos os progenitores, se coincidente. Assim, a origem familiar não coincide necessariamente com o local de residência do doente.

São registados no CEP, todos os doentes e familiares que, aí se dirigem para apoio clínico (prestado em colaboração com o Hospital Geral de Santo António) ou para a realização de testes genéticos preditivos ou de diagnóstico. Como referido anteriormente, o registo remonta ao primeiro doente observado pelo Dr. Corino de Andrade, em 1936. Desde essa data até Abril de 1999, foram registados 2575 doentes e portadores do gene preditivo da doença.

A importância dos concelhos da Póvoa de Varzim e de Vila do Conde como origem familiar é bem expressa no facto de até 1992, 424 dos 1224 doentes registados (35%) pertencerem a 140 famílias desta área (Póvoa de Varzim com 99 famílias e 330 doentes, Vila do Conde com 41 famílias e 94 doentes). No mesmo ano, no Norte do país, os concelhos de Barcelos, (52 famílias e 165 doentes) e Braga (29 famílias e 94 doentes) eram aqueles que se seguiam como área de maior incidência (Coelho, T. 2004). Figueira da Foz (34 famílias, 84 doentes), Porto (26 famílias, 59 doentes), Esposende (26 famílias, 77 doentes) são outros dos concelhos de da área de influência da consulta do HGSA ou do CEP, tradicionalmente referidos e com árvores genealógicas registadas.

Na seguinte quadro está representada a distribuição até 1999, dos doentes e portadores do gene preditivo da doença, por regiões.

NUTS II	NUTS III	Portadores
Norte	Minho-Lima	22
Norte	Cávado	574
Norte	Ave	56
Norte	Grande Porto	1039
Norte	Tâmega	9
Norte	Entre Douro e Vouga	34
Norte	Douro	10
Norte	Alto Trás-os-Montes	7
Centro	Baixo Vouga	69
Centro	Baixo Mondego	182
Centro	Pinhal Litoral	34
Centro	Pinhal Interior Norte	23
Centro	Dão-Lafões	37
Centro	Pinhal Interior Sul	1
Centro	Serra da Estrela	65
Centro	Beira Interior Norte	1
Centro	Beira Interior Sul	3
Centro	Cova da Beira	41
L.V.T.	Oeste	18
L.V.T.	Grande Lisboa	234
L.V.T.	Península de Setúbal	63
L.V.T.	Medio Tejo	3
L.V.T.	Lezíria do Tejo	41
Alentejo	Alentejo Litoral	3
Alentejo	Alto Alentejo	0
Alentejo	Alentejo Central	1
Alentejo	Baixo Alentejo	0
Algarve	Algarve	5
Total		2575

Quadro 1 – Distribuição dos doentes e portadores do gene preditivo da doença por regiões (CEP, 1999)

As sete regiões mais afectadas estão assinaladas no mapa seguinte:

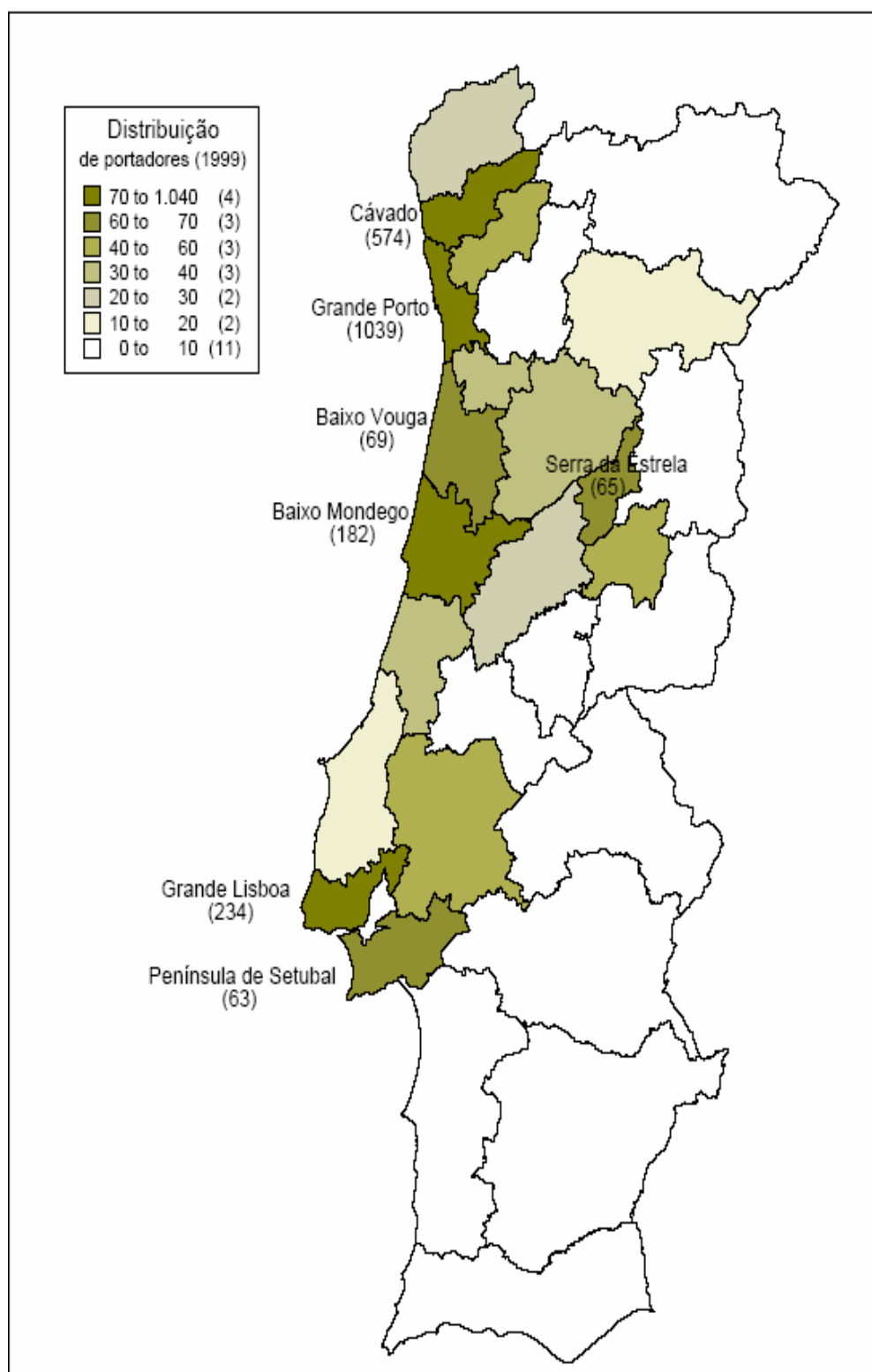


Fig 3 - Mapa das principais regiões afectadas pela PAF (CEP, 1999)

Comparando os indivíduos registados até 1988, inclusive, com aqueles que foram registados após esse ano, os números encontrados são os seguintes:

Região (nut III)	Código INE	Até 1988	1989-99
Minho-Lima	0101	7	15
Cávado	0102	391	183
Ave	0103	30	26
Grande Porto	0104	726	313
Tâmega	0105	2	7
Entre Douro e Vouga	0106	14	20
Douro	0107	4	6
Alto Trás-os-Montes	0108	7	0
Baixo Vouga	0201	16	53
Baixo Mondego	0202	97	85
Pinhal Litoral	0203	16	18
Pinhal Interior Norte	0204	2	21
Dão-Lafões	0205	7	30
Pinhal Interior Sul	0206	0	1
Serra da Estrela	0207	36	29
Beira Interior Norte	0208	0	1
Beira Interior Sul	0209	0	3
Cova da Beira	0210	21	20
Oeste	0301	5	13
Grande Lisboa	0302	105	129
Península de Setúbal	0303	19	44
Médio Tejo	0304	1	2
Lezíria do Tejo	0305	14	27
Alentejo Litoral	0401	0	3
Alto Alentejo	0402	0	0
Alentejo Central	0403	1	0
Baixo Alentejo	0404	0	0
Algarve	0501	0	5
Total		1521	1054

Quadro N° 2 - Quadro Comparativo de indivíduos portadores de PAF por região/Ano de registo (CEP, 1999)

É notório o aparecimento de doentes em algumas regiões onde nunca tinham sido referenciados (Algarve, Alentejo Litoral, por exemplo), assim como uma perda de peso

relativo na distribuição das regiões de onde se pensa ser a doença originária, em favor de regiões mais a sul, como se nota no mapa da página seguinte:

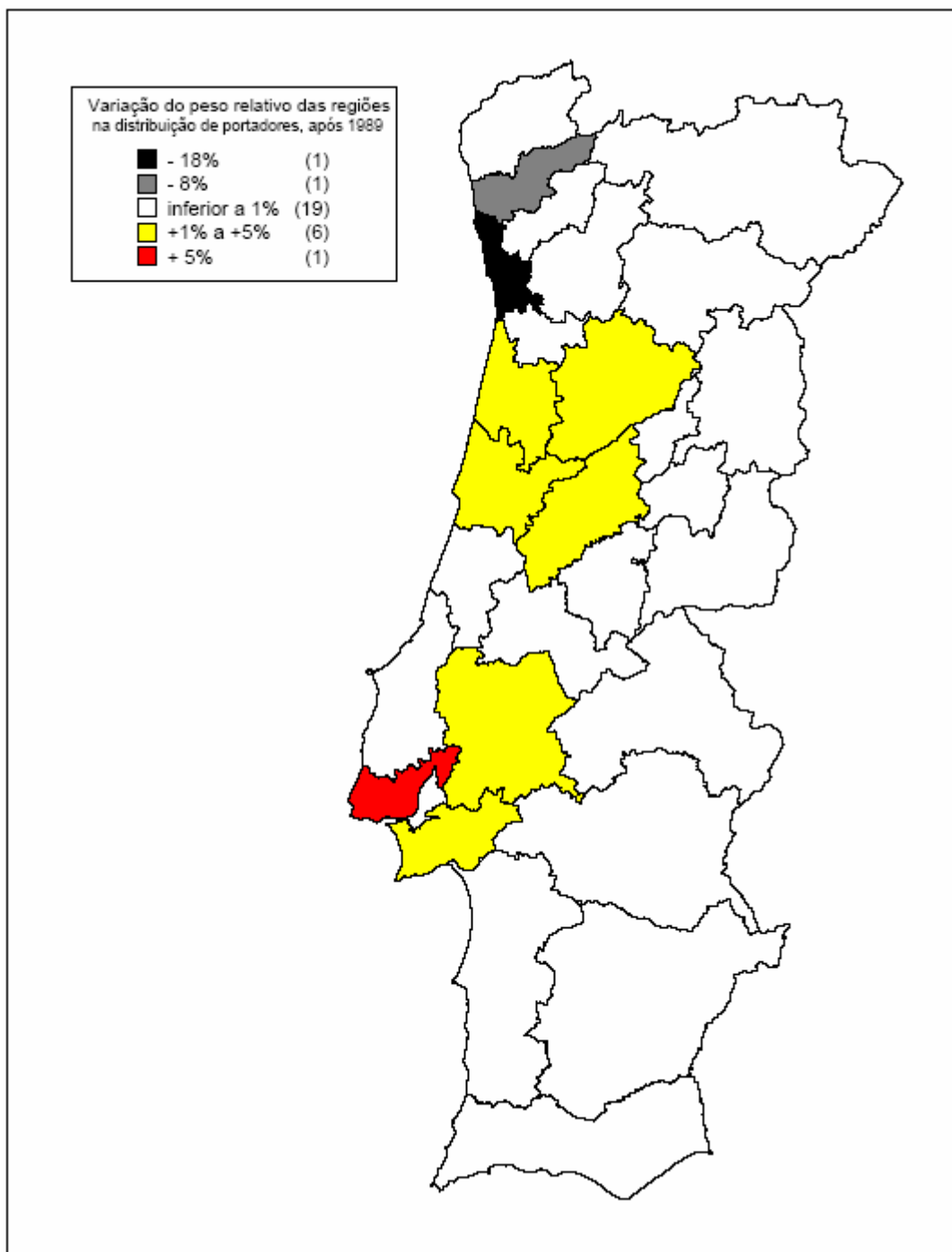


Fig 4 - Variação do peso relativo das regiões na distribuição de portadores, após 1989 (CEP, 1999).

Alguns pontos importantes a destacar relativamente aos valores acima referidos, são:

- O desaparecimento de portadores de Alto Trás-os-Montes provavelmente reflecte a desertificação do interior profundo com a emigração.
- Os números da região da Grande Lisboa estão provavelmente um pouco inflacionados em detrimento das regiões limítrofes. É comum o CEP receber pedidos de análise de centros hospitalares de Lisboa em não é referida a residência do doente, ou que apenas é referida “Lisboa”, sem outra especificação.
- Estão referenciados 4 portadores na Madeira.
- Existem registos de portadores Portugueses ou luso-descendentes residentes em França (25), Alemanha (6), Luxemburgo (5), Suíça (4), Canadá (4), Angola (3), Holanda (2), e África-do-Sul, Andorra, Bélgica, EUA, Mónaco e Venezuela (1 cada). Muitos destes são emigrantes temporários que solicitam apoio quando se deslocam a Portugal (Amyloid Research Centre).

O Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose (CEAP) da Póvoa de Varzim exerce uma multifacetada actividade no tratamento e apoio aos doentes com paramiloidose.

De entre os dados estatísticos do CEAP, na Póvoa de Varzim, reunidos pela Dra. Laura Farinho no trabalho “Elementos Estatísticos do Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose” de Abril de 2008 destaco os seguintes:

- Em relação ao estado civil, é possível constatar que a grande maioria dos utentes do CEAP são casados. É portanto, essencial a prestação de cuidados na área da prevenção e do tratamento, abordando o doente de uma forma integrada e inserida no contexto sócio-familiar. A PAF para além das limitações físicas que acarreta, traz consigo problemas de ordem social, laboral, familiar e sentimental. Grande parte dos doentes tem filhos, possíveis portadores da doença, o que requer um maior acompanhamento de todo o agregado familiar.

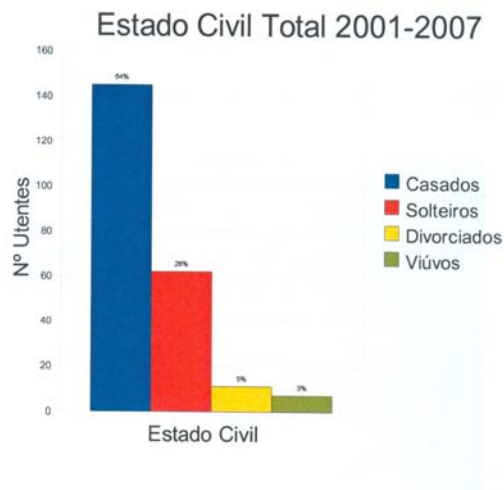


Gráfico 1 – Dados relativos ao estado civil de portadores de PAF inscritos no CEAP, no período (2001-2007), (Farinho L., Abril de 2008)

- No que diz respeito ao transplante hepático de utentes do CEAP, podemos constatar que: entre o ano de 2001 e 2007 foram transplantados mais homens, embora no ano de 2007 essa tendência tenha sido invertida, visto que foram transplantados 8 homens e 11 mulheres.

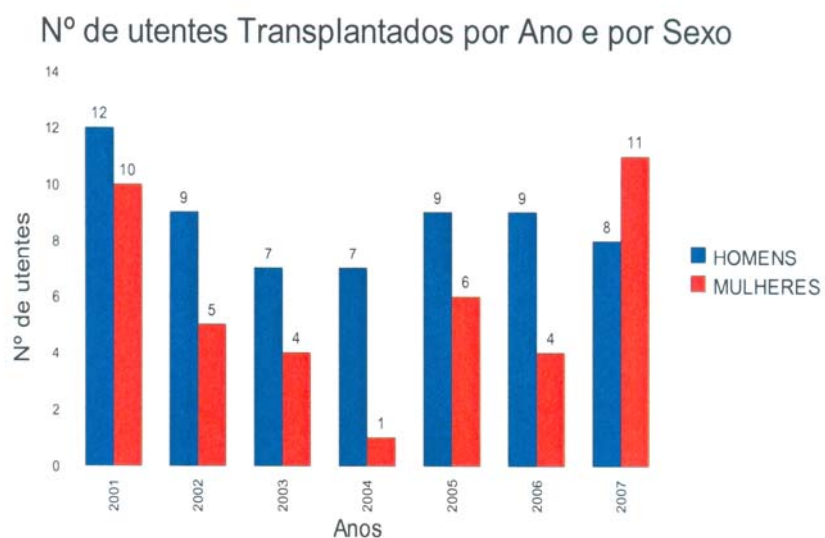
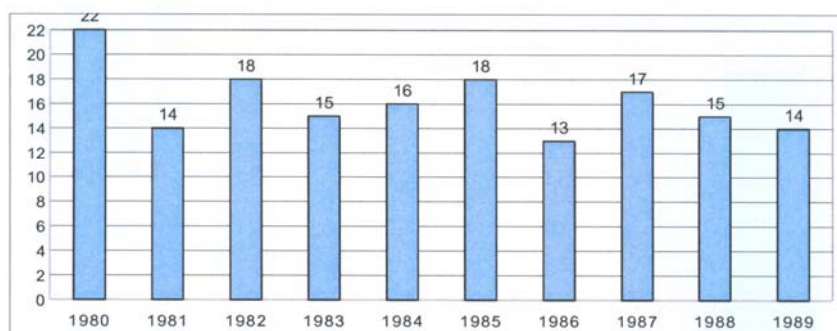


Gráfico 2 – Dados relativos ao numero de doentes transplantados por ano e sexo (Farinho L., Abril de 2008).

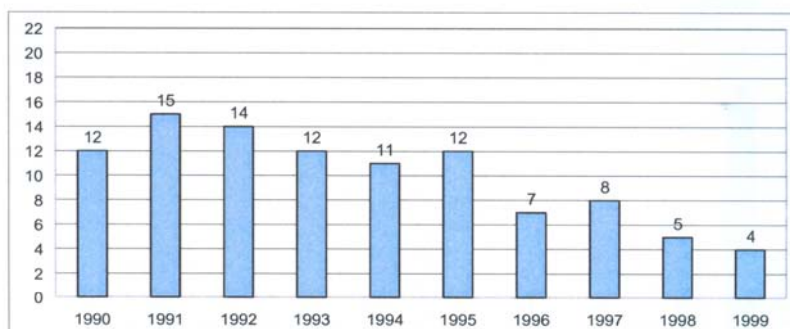
Seguidamente serão apresentados três gráficos que ilustram o número de nascimentos em risco, antes da existência do CEAP (1980-1989) e depois da intervenção deste.

Nascimentos em Risco - Póvoa de Varzim

1980 - 1989



1990 - 1999



2000 - 2007

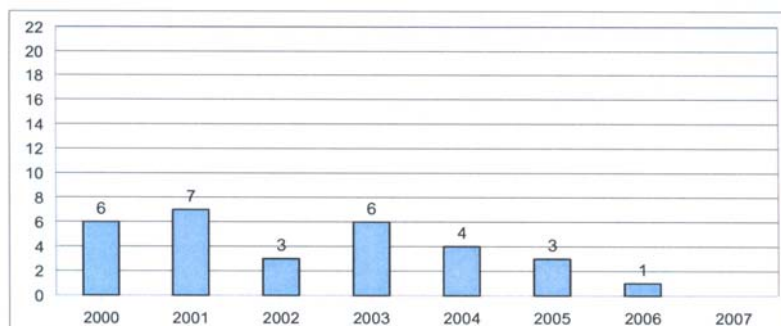


Gráfico 3 – Nascimentos em risco, desde 1980 até 2007 (Farinho L., Abril de 2008)

Como se pode verificar nos gráficos acima apresentados, o número de nascimentos em risco, só no Concelho da Póvoa de Varzim, manteve-se sempre na mesma média na década de 80 (antes da existência do CEAP), após a abertura do CEAP, na década de 90 até 2007, onde são apresentados os dados de todos os Concelhos de onde provêm doentes, podemos verificar a existência de um acentuado decréscimo de nascimentos em risco. Este decréscimo poderá dever-se à intervenção do Centro a nível da prevenção e do encaminhamento dos casais para a Consulta de Diagnóstico Pré-Natal, Diagnóstico Pré-Implantatório e Planeamento Familiar.

Os dados referidos mantêm actualidade quanto à importância relativa dos concelhos de origem, mas o número total de doentes aumentou progressivamente desde então e reconheceram-se novas famílias, isto é, sem ligações às anteriormente conhecidas (CoelhoT. 2004).

Conclusão

Os resultados obtidos a partir da extensa revisão bibliográfica efectuada, permitiram tirar conclusões acerca de vários aspectos referentes ao tema Paramiloidose Amiloidótica Familiar Tipo Português (TTR V30M) .

A existência de uma predominância de pacientes com expressão clínica da PAF, do sexo masculino é explicada pelo facto de as mulheres manifestarem mais tardiamente a doença.

Há influência entre o sexo do progenitor transmissor da doença e a idade de apresentação da mesma, conduzindo a transmissão materna a um início mais precoce e a paterna a um início mais tardio da doença.

Relacionando o sexo do progenitor e do doente, verificou-se que os filhos de mães com esta doença, a manifestam mais cedo, enquanto que as filhas de pais com a doença, a manifestam mais tardiamente.

Quanto à patogénese molecular na PAF, concluiu-se que os agregados não fibrilares apresentam efeitos citotóxicos, enquanto que tanto os depósitos fibrilares, como a proteína solúvel não evidenciam toxicidade.

A PAF é uma doença disseminada por todo o Mundo. A hipótese de a mutação TTR Val30Met ter origem em Portugal é actualmente corroborada por dados epidemiológicos, factos históricos e estudos genéticos. De acordo com a revisão bibliográfica efectuada, a mutação Val30Met, disseminada por países como Portugal, Japão, Espanha, tem de facto uma mutação ancestral de origem comum. É concebível a hipótese de existir um fundador comum para pacientes Portugueses e Japoneses, para pacientes Portugueses e Espanhóis, mas não para pacientes Suecos e de outras nacionalidades.

Quanto ao tratamento, apesar de todos os progressos conseguidos, continuamos a ter doentes para tratar sintomaticamente e diversos problemas para resolver.

O transplante hepático veio retirar à PAF, o seu carácter progressivo e necessariamente fatal. Veio também acrescentar outros riscos e problemas. Actualmente ocorrem em Portugal, cerca de metade dos transplantes hepáticos por PAF realizados em todo o Mundo.

A sobrevida aos 5 anos após o transplante hepático tem aumentado ao longo dos anos. De 60% no período de 1990 a 1994, passou para 90% no período de 1999 a 2003. A maioria dos transplantes hepáticos é realizada em doentes portadores da mutação TTR Val30Met sendo que, a sobrevida nestes pacientes é 20% superior àquela verificada nos portadores de outras mutações. Os três principais factores de prognóstico em relação à mortalidade pós-transplante são: a sintomatologia inicial; a duração da sintomatologia e o estado nutricional do doente. Verifica-se uma melhoria dos sintomas sensoriais, motores, gastrointestinais e do estado nutricional em 35% dos doentes transplantados.

Apesar da transplantação hepática, verifica-se um agravamento dos défices em alguns doentes. Esta deterioração pode ser explicada pela deposição de TTR formada no epitélio retiniano, ou então de TTR não fibrillar já existente aquando do transplante.

Outros problemas relacionados com o transplante hepático são: o custo elevado implicado; a obrigatoriedade de realizar terapia imunossupressora de forma vitalícia e a impossibilidade de realizar transplante hepático em doentes portadores mas não sintomáticos, ou em pacientes com estado avançado da doença.

Novas estratégias têm sido delineadas, como alternativas à transplantação hepática, nomeadamente a imunização com TTR Y78F e a terapia com tetraciclina. A imunização in vivo, com TTR Y78F reduziu drasticamente a deposição de amiloide e degradou os depósitos de amiloide estabelecidos, em ratos transgénicos com PAF, através da activação de fagócitos. Dado não se ter observado qualquer alteração fisiológica nefasta para o organismo, apenas as

consequentes à presença de TTR anormal e depósitos de amilóide, a sua aplicação em humanos, pode estar para breve. Esta terapêutica beneficiará especialmente, aqueles que apresentam uma acentuada deposição de substância amilóide nos tecidos e terá a enorme vantagem de poder ser utilizada em doentes portadores da doença, numa fase assintomática, recorrendo a um processo semelhante à vacinação. Os doentes já transplantados não beneficiarão desta terapêutica, visto estarem obrigados a realizar terapia imunossupressora.

A doxiciclina mostrou-se capaz de degradar os depósitos de amilóide maduros instalados. Foi também concluído que a doxiciclina não é capaz de actuar sobre os agregados não fibrilares. A doxiciclina pode vir a ter um papel importante no tratamento da PAF e de outras Amiloidoses.

Quanto aos dados estatísticos referentes à PAF em Portugal, destaco o aparecimento de doentes em algumas regiões onde nunca tinham sido referenciados, assim como uma perda de peso relativo na distribuição das regiões de onde se pensa ser a doença originária, em favor de regiões mais a sul.

Verificou-se que a grande maioria dos utentes do CEAP na Póvoa de Varzim é casada, pelo que é essencial a prestação de cuidados na área da prevenção e do tratamento.

Grande parte dos doentes tem filhos possíveis portadores da doença, o que requer um maior acompanhamento de todo o agregado familiar. Verificou-se a existência de um acentuado decréscimo de nascimentos em risco desde a abertura do CEAP. Este decréscimo poderá dever-se à intervenção do Centro a nível da prevenção e do encaminhamento dos casais para a Consulta de Diagnóstico Pré-Natal, Diagnóstico Pré-Implantatório e Planeamento Familiar.

Desde a sua descrição inicial, o número de famílias com PAF tem vindo a aumentar. A progressão da doença em Portugal, o seu carácter progressivo, incapacitante e o facto de acometer essencialmente indivíduos jovens, torna-a num grave problema de Saúde Pública.

Não obstante já existirem trabalhos realizados sobre este tema, raros são aqueles que se debruçam sobre a PAF tipo I, de forma tão abrangente. Este trabalho permitiu dar a conhecer o trajecto da doença, desde a sua descrição inicial até aos dias de hoje, expô-la à luz do conhecimento actual e esboçar perspectivas de futuro. A divulgação de uma doença, disseminada pelo mundo, com origem em Portugal e responsável pelo sofrimento de tantas famílias, foi o objectivo deste trabalho. “Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) Tipo I: Uma Visão Actual de um Problema de Saúde Antigo”, com esperança de um final feliz.

Bibliografia

ADAMS, D. 2000, The course and prognostic factors of familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation

ALMEIDA, A. 2003, PAF – A doença dos pezinhos, *Sinais Vitais*, **29**, pp.30-34.

ANDERSSON, R. 1970, Hereditary Amyloidosis with polyneuropathy, *Acta Med Scand*, **188**, pp.85-94.

ANDERSSON, R. 1976, Familial Amyloidosis with polyneuropathy: a clinical study based on patients living in Northern Sweden, *Acta Med Scand*, **590**, pp.1-64.

ANDO, E., ANDO, Y., OKAMURA, R. *et al* 1997, Ocular manifestations of Familial Amyloidotic Polyneuropathy type I: long term follow up, *Br J Ophthalmology*, Department of Ophthalmology, Kumamoto University, Japan, **81**(4), pp. 295-298.

ANDO, Y., ARAKI, S., ANDO, M. 1993, Transthyretin and familial amyloidotic polyneuropathy, *First Department of Internal Medicine*, Kumamoto, **32**(12), pp.920-922.

ANDO, Y., NAKAMURA, M., ARAKI, S. 2005, Transthyretin – Related Familial Amyloidotic Polyneuropathy, *Arch Neurology*, **62**, pp. 1057-1062.

ANDRADE, C. 1952, A peculiar form of peripheral neuropathy: familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves, *Brain*, **75**, pp.408-427.

ANDRADE, C. *et al* 1969, The genetic aspects of familial amyloidotic polyneuropathy, *Humangenetik*, vol. 7.

ARAKI, S. 1995, Antecipacion of age-of-onset in familial amyloidotic polineurophaty and is pathogenesis, *Intem Med*, pp.748-750.

ARAKI, S., KURIAHARA, T., TAWARA, S. *et al* 1980, Familial Amyloidotic Polyneuropathy in Japanese, In: Amyloid and Amyloidosis, eds. GLENNER, G.G., COSTA, P.P., FREITAS, A.F., *Excerpta Medica*, Amsterdam, pp.67-77.

ARAKI, S., MAWATARI, S., OHTA, M. *et al* 1968, Polyneuritic Amyloidosis in a Japanese family, *Arch Neurol*, **18**, pp.593-602.

BARBOSA, R. 2000, Prof. Corino de Andrade: Modelo de Investigação Científica, *Notícias Médicas*, pp.14-16.

BARROS, A. 2000, Aplicação do Diagnóstico Genético Pré-Implantação à Polineuropatia Amiloidótica Familiar Tipo Português (PAF), *V Encontro Nacional de Paramiloidose para Técnicos de Saúde*, Póvoa de Varzim.

BARROS, J., MAMEDE, C. 2006, Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, *Sinapse*, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, pp.40-160.

BEIRÃO, M., Manifestações Oculares da Amiloidose Familiar Tipo I, Centro de Estudos da Paramiloidose, Porto.

BENSON, M.D. 2001, Amyloidosis in the metabolic and molecular basis of inherited disease, Eight Edition, *McGraw Hill Book*, New York, **pp.5345-5378**.

CARDOSO, I., SARAIVA, M.J. 2006, Doxycycline disrupts transthyretin amyloid: evidence from studies in a FAP transgenic mice model, *Molecular Neurobiology*, Porto, **20(2)**, **pp.234-239**.

CARVALHO, P. 2001, *Intervenção da Fisioterapia na Paramiloidose vs Qualidade de Vida*, Porto, **pp.7**.

CAVALLARO, T., MARTONE, R.L., DWORK, A.J. 1990, The retinal epithelium is the unique site of transthyretin synthesis in the eye rat, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **31**, **pp.497-501**.

COELHO, T. 2003, *VI Encontro Nacional de Paramiloidose para técnicos de Saúde*, Santarém.

COELHO, T. Fevereiro de 2004, *Comunicação ao Departamento de Doenças Neurológicas do Hospital Geral de Santo António*, Porto, HGSA.

COELHO, T. SOUSA, A., LOURENÇO, E. *et al* 1994, A study of 159 Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy whose parents were both unaffected, *J Med Genet*, **31**, **pp.293-299**.

COHEN, A.S. 1966, The constitution and genesis of amyloid, *Int Rev of Exp Pathol*, **4**, pp.159-243.

COHEN, A.S. 2000, Histoire de L'amylose, In: Les Amyloses, eds. GRATEAU, G., BENSON, M.D., DELPECH, M., *Médecine-Sciences Flammarion*, Paris, pp. 1-10.

COHEN, A.S., CALKINS, E. 1959, Electron microscopic observation on a fibrous component in amyloid of diverse origins, *Nature*, **83**, pp.1202-1203.

COIMBRA, A., ANDRADE, C. 1971, Amyloid Polineuropathy: and electron microscope study of peripheral nerve in five cases, (II) Nerve Fibril changes, *Brain*, **94**, pp.207-212.

COIMBRA, A., ANDRADE, C. 1971, Familial Amyloid Polineuropathy: and electron microscope study of peripheral nerve in five cases, (I) Interstitial changes, *Brain*, **94**, pp. 199-206.

CONCEIÇÃO, I., Clínica e História Natural da Polineuropatia Amiloidótica Familiar, In: Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, eds. BARROS, J., MAMEDE, C., *Sinapse*, 2006, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, pp.86-90.

COSTA, P.F., FIGUEIRA, A.S., BRAVO, F.R. 1978, Amyloid fibril related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathy, *Proc Natl Acad Sci USA*, **75**, pp.4499-4503.

COSTA, P.P. 1999, O diagnóstico da Paramiloidose em Portugal, *Jornal da Associação Portuguesa de Paramiloidose*, Vila do Conde, **24**, pp.9.

COSTA, P.P. et al 1990, Familial Amyloidotic Polyneuropathy: and another transthyretin related disorderes, *Arquivos de Medicina*, Porto.

COUTINHO, C. A., Envolvimento Cardíaco na Polineuropatia Amiloidótica Familiar, In: Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, eds. BARROS, J., MAMEDE, C., *Sinapse*, 2006, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, **pp.92-97**.

COUTINHO, P. 1989, *As viagens de um Gene*, Porto, Rocha/Artes Gráficas Lda.

COUTINHO, P. Novembro de 2001, Corino de Andrade: a Obra e o Homem, *Sinapse*, Volume 1, Nº.1, **pp.5**.

COUTINHO, P., BARBOSA, A.R. 1976, Aspectos Neurológicos da PAF, *Boletim do Hospital Geral de Santo António*, Porto, **1(1)**, **pp.27-34**.

DEBRUYN, R.S., STER, R.D. 1929, A case of the progressive hypertrophic polyneuritis of Djerine and Sottas with pathological examination, *Brain*, **52**, **pp. 84-89**.

Diagnóstico Pré-Natal [online], 2004, Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose, [acedido em 17 de Maio, 2008], disponível em <http://www.paramiloidose.org/pt/informacoes.htm>

DICK, P.J., CAMBERT, G.H. 1969, Dissociated Sensation in Amyloidosis, *Arch Neurology*, Chicago, **20**, **pp.490-500**.

FARINHO, L., Abril de 2008, Elementos Estatísticos do Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose, *Santa Casa da Misericórdia da Póvoa de Varzim*, Póvoa de Varzim, **pp.12-17**.

FREITAS, A.F. 1976, Aspectos Clínicos da Polineuropatia Amiloidótica Familiar (tipo Andrade), *Boletim do Hospital Geral de Santo António*, Porto, 1 (2), **pp. 17-25**.

FURTADO, E., Transplantação Hepática na Polineuropatia Amiloidótica Familiar, In: Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, eds. BARROS, J., MAMEDE, C., *Sinapse*, 2006, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, **pp.151-153**.

GRATEAU G., DELPECH, M. 2000, In: Les Amyloses, eds. GRATEAU, G., BENSON, M.D., DELPECH, M., *Médecine-Sciences Flammarion*, Paris, **pp.13-48**.

Harvard Style Bibliographies and references [online], 2008, University of Leeds, [acedido a 1 de Junho de 2008], disponível em:

<http://www.leeds.ac.uk/library/training/referencing/harvard.htm>

HERBERT, J., WILCOX, J.N., PHAM, K.T. *et al* 1986, Transthyretin: A choroids plexusspecific transport protein in human brain, *Neurology*, **36**, **pp.900-911**.

KYLE, R.A. 2001, Amyloidosis: the last three centuries, In: Amyloid and Amyloidosis, eds. BELY, M., APATHY, A., *David Apathy Publ*, Hungary, **pp.10-13**.

LOBÃO, C.A. 2003, Consentimento Informado, *Informar*, Maia, **30**, **pp.20**.

LOBATO, L., BEIRÃO, I., SILVA, M. *et al* 2004, End-stage renal disease and dialysis in hereditary amyloidosis TTR V30M: presentation, survival and prognostic factors In: A Nefropatia na Polineuropatia Amiloidotica Familiar de tipo Português (TTR V30M), ed. LOBATO, L., 2004, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, **pp.130-140**.

LOBATO, L., BEIRÃO, I., SILVA, M. *et al* 2003, Familial ATTR Amyloidosis: microalbuminuria as a predictor of symptomatic disease and clinical nephropathy, *Nephrology Dialysis Transplantation*, **18**, **pp.532-538**.

LUÍS, M.L.S. 1999, Polineuropatia Amiloidótica Familiar, *Jornal da Associação Portuguesa*, Vila do Conde, **24**. **pp.10**.

LUIS, M.L.S., Polineuropatia Amiloidotica Familiar do tipo Português: do artigo original ao futuro, In: Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, eds. BARROS, J., MAMEDE, C. 2006, *Sinapse*, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, **pp-40-42**.

MAURY, C.P.J. 1991, Gelsolin – Related amyloidosis: Identification of amyloid protein in finish hereditary Amyloidosis as a fragment of variant gelsolin, *J Clin Invest*, **87**, **pp. 1195-1199**.

MAXWELL, E.S., KIMBELL, I. 1936, Familial Amyloidosis with case reports, *Med Bull Vet Admin*, **12**, **pp.365-369**.

MORAIS, A.R. 2001, Unhais da Serra, uma população da Serra da Estrela, *Jornal da Associação Portuguesa da Paramiloidose*, **27**, pp.12-13.

NAVASQUEZ, S., TREBLE, H.A. 1968, A case of generalized amyloid disease with involvement of the nerves, *Brain*, **61**, pp.116-120.

NICHOLS, W.C., GREGG, R.E., BREWER, B.J. et al 1990, A mutation in apolipoprotein A-I in the Iowa Type of familial amyloidotic polineuropathy, *Genomics*, **8**, pp.318.323.

OHMORI, H., ANDO, Y., MAKITA, Y. *et al* 2004, Common origin of de Val30Met mutation responsible for the amyloidogenic transthyretin type of familial Amyloidotic Polyneuropathy, *Department of Neurology, Kumamoto University Of Medicine, Kumamoto, Japan*.

PEREIRA, S. 1999, A pesquisa de TTR MET30 «colheita sanguínea», *Jornal da Associação Portuguesa de Paramiloidose, Vila do Conde*, **24**, pp.11.

PINHO e COSTA, P. 1986, A Substância Amilóide na PAF, *Dissertação de Candidatura ao Grau de Doutor em Ciências Biomédicas, Especialidade em Bioquímica, Universidade do Porto, Porto*.

RESENDE, J. 1976, Introdução Historiada à Descoberta da PAF, *in Boletim do Hospital Geral de Santo António, Porto*.

SAID, G., ROPERT, A., FAUX, N., 1984, Length – Dependent degeneration of fibres in Portuguese amyloid polyneuropathy: a clinical pathologic study, *Neurology*, **34**, pp. **1025-1032**.

SARAIVA, M.J. 2001, Transthyretin Amyloidosis: a tale of weak interactions, *FEBS Lett*, **498**, pp.**201-203**.

SARAIVA, M.J. 2001, Transthyretin mutations in hyperthyroxinemia and amyloid diseases, *Hum Mutat*, **17**, pp. **493-503**.

SARAIVA, M.J., COSTA, P.P., BIRKEN, S. *et al* 1983, Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy, *Trans Assoc Am Physicians*, **96**, pp.**261-270**.

SARAIVA, M.J., COSTA, P.P., BIRKEN, S. *et al* 1983, Family studies of the genetic abnormality in transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy, *Ann N Y Acad Sci*, **435**, pp.**86-100**.

SARAIVA, M.J.M., COSTA, P. & GOODMAN, D. 1986, Genetic expression of a transthyretin mutation in typical and late-onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy, *Neurology*, **36** (11), pp.**1413-1417**.

SARAIVA, M.M., Alterações digestivas na Polineuropatia amiloidótica familiar, In: *Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro*, eds. BARROS, J., MAMEDE, C., *Sinapse*, 2006, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, pp.**110-118**.

SEQUEIROS, J., SOUSA, A., COELHO, I. 1990, Sex differences and age-dependent penetrance in FAP- Type I, In: of age-of-onset in familial amyloidotic polyneuropathy and its pathogenesis, ed. ARAKI, S., 1995, *Intern Med*, **pp. 748-750**.

SOUSA, A. 1995, A variabilidade fenotípica da Polineuropatia Amiloidótica Familiar: um estudo de genética quantitativa em Portugal e na Suécia, *Dissertação de candidatura ao grau de Doutoramento em Ciências Biomédicas*, ICBAS, Universidade do Porto.

SOUSA, A., COELHO, T., LOBATO, L. *et al* 1990, Anticipation of age-of-onset in familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese type), In: Amyloid and Amyloidosis, eds. NATVIG, J.B., FORRE, O., HUSBY, G. *et al* 1991, *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, **pp. 694**.

SOUSA, M.M., CARDOSO, I., FERNANDES, R. *et al* 2001, Deposition of transthyretin in early stages of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for toxicity of nonfibrillar aggregates, *Institute for Cellular and Molecular Biology*, Porto, **pp-1993-2000**.

SOUSA, M.M., GUIMARÃES, A., FERNANDES, R. *et al*, Patologia Molecular Associada à Polineuropatia Amiloidótica Familiar, In: Polineuropatia Amiloidótica Familiar de Tipo Português: do artigo original ao futuro, eds. BARROS, J., MAMEDE, C. 2006, *Sinapse*, Suplemento 1, Volume 6, Nº. 1, **pp.80-85**.

TAKEI, Y., IKEDA, S., IKEGAMI, T. *et al* 2005, Ten years of experience with liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy in Japan: outcomes of living donor liver transplantations, *Third Department of Medicine*, Matsumoto, **44(11)**, **pp.1151-1156**.

TASHIMA, K., ANDO, Y., UCHINO, M. *et al* 1995, Change in the age-of-onset in patients with familial amyloidotic polyneuropathy tipe I, *First Department of Internal Medicine, Kumamoto*, **34**(8), **pp.748-750**.

TARAWA, S., NAKAZATO, M., KANGAWA, K. 1983, Identification of prealbumin variants in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type), *Biochem Biophys Res Commun*, **116**, **pp.880-888**.

TERASAKI, H., ANDO, Y., FERNANDES, R. *et al* 2006, Immunization in Familial Amyloidotic Polyneuropathy: counteracting deposition by immunization with a Y78F TTR mutant, *Molecular Neurobiology, University of Porto, Porto* **86**(1), **pp23-31**.

VAN ALLEN, M.W., FROHLICH, J.A., DAVIS, J.R. 1969, Inherited predisposition to generalized Amyloidosis: clinical and pathological study with nephropathy, neuropathy and peptic ulcer, *Neurology*, **19**, **pp.10-25**.