



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

A Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) no concelho da Covilhã

**Sua caracterização e breve comparação com a doença
nos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde**

Maria Luísa Martins de Jesus Costa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor António Jorge Santos Silva

Co-orientador: Professora Doutora Maria Teresa Pardal Monteiro Coelho

Covilhã, Junho de 2011

Pensamento

“Não sabendo que era impossível,
ele foi lá e fez.”

Jean Cocteau

Agradecimentos

O meu agradecimento especial:

Ao Doutor António Jorge Santos Silva, pela orientação e total apoio que me foi prestada no decurso da elaboração do trabalho.

À Professora Doutora Maria Teresa Coelho, que tantas vezes chateei, pelo amparo, atenção e disponibilidade que me demonstrou.

À Dra. Alda Sousa pela ajuda preciosa nos momentos de desespero.

Ao Doutor Pedro Rosado por me ter acolhido no seu espaço, por ter facilitado a minha pesquisa de dados, pelo seu sorriso e tranquilidade.

À Sra. Enfermeira Maria José Carrega pela sua disponibilidade, pela simpatia e vivacidade que me transmitiu.

A todos os funcionários do Gabinete de Estudos, Planeamento e Informação para a Gestão, do Centro Hospitalar Cova da Beira, pelo auxílio na pesquisa de dados, pelo bom humor.

À minha família pelo amor, pela paciência, por me fazerem e verem crescer.

Aos meus amigos, por me fazerem sorrir.

A mim!

Resumo

Introdução: A Polineuropatia Amiloidótica Familiar ou Paramiloidose foi descrita pela primeira vez em 1952, por Andrade, em doentes de Póvoa de Varzim e de Vila do Conde, como uma doença hereditária mais frequente e precoce no género masculino. Em 1961, foi identificado por Rosário et al um novo foco, em Unhais da Serra (Covilhã). Manifestava-se, aqui, mais tardiamente e descreveram-se mais casos isolados (sem Paramiloidose na família).

Objectivos: Esta investigação tem como objectivos a caracterização epidemiológica, clínica e genética da Paramiloidose no concelho da Covilhã e posterior comparação com os concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

Material e Métodos: É um estudo observacional, descritivo, transversal, de prevalência e com carácter retrospectivo. Analisaram-se as seguintes variáveis: ano de diagnóstico, freguesia de residência, distribuição por género, idade de início da sintomatologia, duração da doença, realização ou não de transplante hepático, género e estado (sintomático ou não) do progenitor transmissor. Consultaram-se a base de dados da Unidade Clínica de Paramiloidose e os processos clínicos do Centro Hospitalar Cova da Beira e Centro de Saúde da Covilhã dos doentes/portadores naturais da Covilhã (152 indivíduos, sendo 99 doentes e 53 portadores). Pesquisou-se, também, a base de dados da Unidade Clínica de Paramiloidose dos doentes naturais de Póvoa de Varzim/Vila do Conde (738 doentes). Os dados obtidos retratam o intervalo de 1939 a 31 de Dezembro de 2010.

Resultados: Na Covilhã não se confirmam os pressupostos de que o género masculino é o mais afectado (razão Homem/Mulher da amostra é de 1,0) ou que a sua sintomatologia é mais precoce (idade de início nos homens é $39,7 \pm 14,5$ anos, nas mulheres é $41,2 \pm 12,3$; $p=0,6$). Os doentes naturais da Covilhã têm maior prevalência de casos tardios (sintomatologia iniciada após os 50 anos) - 26,0%, em comparação com 2,9% na Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Encontra-se, igualmente, uma maior prevalência de casos isolados na Covilhã (50,0% versus 14,3% na Póvoa de Varzim/Vila do Conde; $p<0,001$).

Discussão: Os resultados obtidos na Beira Interior poder-se-ão dever a uma subvalorização do diagnóstico pelos profissionais de saúde, com um conseqüente falseamento dos mesmos. A amostra da Covilhã revelou ser diferente não só do foco de Póvoa de Varzim/Vila do Conde como também da inicialmente estudada por Andrade. Estas divergências poderão ser explicadas pela interacção de factores genéticos/ambientais e pela evolução dos conhecimentos sobre Paramiloidose adquiridos desde 1952. São necessários, pois, novos estudos para melhor esclarecimento.

Palavras-chave

Amiloidose

Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF)

Transtirretina (TTR)

Mutação

Prevalência

Abstract

Introduction: Familial Amyloidotic Polyneuropathy or Paramyloidosis was first described in 1952 by Andrade, in patients from Póvoa de Varzim and Vila do Conde, as a hereditary disease more frequent and earlier in men. In 1961, a new outbreak was identified by Rosário et al in Unhais da Serra (Covilhã). Here, the disease had a later manifestation and a larger number of isolated cases (without any known Paramyloidosis family history).

Aims: Aims of this research are the epidemiologic, clinical and genetic characterization of Paramyloidosis in Covilhã and then a comparison with Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

Material and Methods: This is an observational, descriptive, cross-sectional, prevalence and retrospective study. The following variables were analyzed: year of diagnosis, residence, distribution by gender, age at onset of symptoms, duration of the disease, liver transplant, transmitter progenitor gender and status (symptomatic or not). It was studied the Unidade Clínica de Paramiloidose database and Hospital Cova da Beira and Centro de Saúde da Covilhã clinical processes from patients/carriers born in Covilhã (152 in total, 99 patients and 53 carriers). The Unidade Clínica de Paramiloidose database from patients born in Póvoa de Varzim/Vila do Conde was also studied (738 patient). These results refer to the interval from 1939 to 31 December 2010.

Results: It isn't confirmed, in Covilhã, the assumption that males are more affected (Male/Female ratio is 1,0) or have earlier onset (age of onset in men is $39,7 \pm 14,5$ years and in women is $41,2 \pm 12,3$; $p=0.6$). Patients from Covilhã have higher prevalence of late cases (symptoms initiated after 50 years) - 26,0%, in comparison with 2,9% in Póvoa de Varzim/Vila do Conde). A higher prevalence of isolated cases is also noticed in Covilhã (50,0%; 14,3% in Póvoa de Varzim/Vila do Conde; $p < 0,001$).

Discussion: Results obtained from Beira Interior may be due to an underestimation of the diagnosis by health professionals, with their consequent distortion. Results from Covilhã are different from those obtained in Póvoa de Varzim/Vila do Conde, and also from the Andrade's initial study. These divergences may be explained by genetic/environment factors interaction and also by further understanding of Paramyloidosis acquired since 1952. New studies are needed for better clarification.

Keywords

Amyloidosis

Familial Amyloidotic Polyneuropathy

Transthyretin (TTR)

Mutation

Prevalence

Índice

Pensamento	ii
Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Palavras-chave	v
Abstract.....	vi
Keywords	vii
Índice	viii
Índice de Figuras	x
Índice de Tabelas	xi
Índice de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas/Siglas	xii
Lista de Abreviaturas/Siglas	xii
1 Introdução	1
1.1 Etiologia	1
1.2 Descrição Inicial da Doença	1
1.3 Diagnóstico e Tratamento da Doença	2
1.4 Origem da Doença	3
1.5 Heterogeneidade Genética e Variabilidade Fenotípica	3
1.6 Objectivos Deste Estudo	4
2 Materiais e Métodos	5
2.1 Tipo de Estudo	5
2.2 População em Estudo	5
2.3 Recolha de Dados	5
2.4 Variáveis.....	6
2.4.1 Definição da idade de início e duração da doença.....	6
2.4.2 Definição da duração da doença	6
2.5 Metodologia Estatística	7
3 Resultados	8
3.1 Descrição da Amostra dos Dois Focos	8
3.2 Foco da Covilhã	8
3.2.1 Amostra Geral (doentes e portadores)	8
3.2.1.1 Descrição da amostra.....	8
3.2.1.2 Diagnóstico de PAF.....	8
3.2.1.3 Local de residência e distribuição pelas freguesias do concelho da Covilhã	9
3.2.2 Doentes	9
3.2.2.1 Distribuição por género	9
3.2.2.2 Idade de início da doença	9
3.2.2.3 Duração da doença.....	10

3.2.2.4	Transplante hepático	10
3.2.2.5	Transmissor da mutação	10
3.2.2.6	Situação do progenitor transmissor em relação à doença	11
3.2.2.7	Famílias “de novo”	11
3.2.2.8	Análise de uma árvore genealógica	11
3.3.	Comparação com o foco de Póvoa de Varzim/Vila do Conde	12
3.3.1	Breve Descrição da Amostra de Póvoa de Varzim/Vila do Conde	12
3.3.1.1	Distribuição por género	12
3.3.1.2	Idade de início da doença	12
3.3.1.3	Transmissor da mutação	12
3.3.1.4	Situação dos progenitores transmissores em relação à doença	13
3.3.1.5	Famílias “de novo”	13
3.3.2	Comparação da Doença entre os Dois Focos	13
3.3.2.1	Comparação epidemiológica	13
3.3.2.2	Comparação do transmissor da mutação	14
3.3.2.3	Comparação das famílias “de novo”	14
4	Discussão	16
4.1	Limitações do estudo	16
4.2	A PAF na Covilhã	16
4.3	Comparação da PAF entre os concelhos da Covilhã e de Póvoa de Varzim/Vila do Conde	17
5	Perspectivas futuras	19
6	Lista de Referências	20
7	Bibliografia	22

Índice de Figuras

Figura 1. Distribuição dos doentes/portadores e famílias por ano de diagnóstico.....	8
Figura 2. Distribuição dos doentes/portadores naturais do concelho por freguesia de residência à data de diagnóstico.....	9
Figura 3. Distribuição da idade de início da doença no geral e por género	10
Figura 4. Árvore genealógica de uma família “de novo” da Covilhã.....	12

Índice de Tabelas

Tabela 1. Distribuição dos progenitores segundo o transmissor da mutação	11
Tabela 2. Distribuição dos doentes segundo o transmissor da mutação	13
Tabela 3. Comparação epidemiológica entre os dois focos	14
Tabela 4. Comparação epidemiológica entre os dois focos	14
Tabela 5. Comparação das “famílias de novo”	15

Lista de Abreviaturas/Siglas

CHCB - Centro Hospitalar Cova da Beira

CHP - Centro Hospitalar do Porto

CS - Centro de Saúde

Dp - Desvio padrão

EMA - European Medicines Agency

EUA - Estados Unidos da América

FDA - Food and Drug Administration

GEPI - Gabinete de Estudos, Planeamento e Informação para a Gestão

HGSA - Hospital Geral de Santo António

H:M - Homem:Mulher

Nº - Número

PAF - Polineuropatia Amiloidótica Familiar

SAM - Sistema de Apoio ao Médico

TTR - Transtirretina

TTR^{Met30} - Transtirretina Metionina 30

UCP - Unidade Clínica de Paramiloidose

Vs - Versus

1 Introdução

A Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) ou Paramiloidose é uma doença hereditária autossómica dominante que se caracteriza por uma deposição extracelular e generalizada de substância amilóide, a partir de uma proteína mutante. (1,2,3,4) Apesar de haver uma deposição multissistémica de amilóide, as manifestações clínicas predominantes são neurológicas - polineuropatia mista, sensitiva, motora e autonómica. (1,2,5) A doença é progressiva e invariavelmente fatal. (1, 5)

Foi descrita pela primeira vez em 1952, por Andrade (5), a partir da observação de doentes oriundos dos concelhos de Póvoa do Varzim e de Vila do Conde. Desde então foi-se reconhecendo que a doença existia em outras regiões de Portugal e em outros países. (3,6) Segundo a última contagem de doentes, em 2009, a PAF afectava mais de 1500 pessoas em Portugal e cerca de dez mil em todo o mundo. O número de casos assintomáticos, no país, ultrapassava os cinco mil. Estes números estão desactualizados e em constante aumento, como se verá mais à frente. (7)

1.1 Etiologia

Investigadores portugueses demonstraram qual o erro bioquímico e genético: uma mutação pontual no cromossoma 18, no gene que codifica uma proteína plasmática de transporte, a transtirretina (TTR), tornando-a instável e levando à formação de fibrilhas que se agregam em substância amilóide. A deposição extracelular desta substância nos tecidos lesa-os. (2,3,8) Os nervos periféricos e as fibras nervosas mais finas e com menos mielina são particularmente susceptíveis ao efeito tóxico desta substância anormal, o que provoca a sua degenerescência e, conseqüentemente, manifestações de neuropatia periférica sensitiva, motora e autonómica. (4)

Sabe-se hoje, que se trata de uma doença heterogénea com diversas apresentações clínicas, causada por mutações em outras proteínas ou mutações diferentes na mesma proteína. (4,9) Todavia, uma mutação pontual no gene da TTR, em que a valina da posição 30 é substituída pela metionina - TTR^{Met30} - é responsável por quase todos os grandes focos mundiais da doença e pela maioria dos casos descritos no mundo. (10,11)

1.2 Descrição Inicial da Doença

Na primeira descrição da doença, em 1952, Andrade (5) chama-lhe “uma forma peculiar de neuropatia periférica”. Esta afecção é conhecida desde longa data como “Doença dos Pezinhos” porque os sintomas se iniciam, frequentemente, nos pés. (1,2,6) Para além de parestesias e perda das sensibilidades térmica e dolorosa com início nos membros inferiores e posterior progressão ascendente, os doentes apresentam alterações gastrointestinais, sexuais, esfinterianas e cardiovasculares. (1-3,5,12) Ao fim de alguns anos de doença todas as

modalidades sensitivas são afectadas. Segue-se um envolvimento motor, com perda de força nos membros e posterior dificuldade ou impossibilidade de marcha. (8,12)

A sua forma clássica tem início na 3ª ou 4ª década de vida, em plena vida activa e reprodutiva, e conduz à morte em 7 a 10 anos em consequência de um estado de caquexia, infecções intercorrentes ou colapso cardiovascular. (1,5). Becker et al (13) discriminaram a idade média de início da doença por género: 33 anos no masculino e 44 no feminino.

Na caracterização inicial da patologia, Andrade (5) ao estudar 64 doentes, sublinhou alguns pontos: 1) a distribuição geográfica específica - 54 indivíduos pertenciam aos concelhos de Póvoa de Varzim, Vila do Conde, Esposende e Barcelos; 2) a maior prevalência da doença e a idade de início mais precoce no género masculino (42 doentes) em relação ao feminino; 3) a natureza hereditária identificável em 51 casos e a existência de 13 casos isolados, sem quaisquer antecedentes familiares conhecidos da doença.

Pouco depois desta primeira descrição, Rosário et al (14) identificaram em 1961 um novo foco de PAF na região de Unhais da Serra (Covilhã). Estes doentes tinham, muitas vezes, idades de início mais tardias que os doentes descritos por Andrade, o que levou a inferir a existência de penetrância variável. (1)

1.3 Diagnóstico e Tratamento da Doença

A presença de história familiar da doença é importante no diagnóstico. Este pode ser feito pela presença de sintomatologia típica associada à identificação de TTR^{Met30} no soro ou de substância amilóide detectada em biopsias tecidulares (pele, nervos, tubo digestivo). (10) Alterações nos estudos de velocidades de condução e de electromiografia estão apenas presentes numa fase mais avançada da PAF, enquanto a resposta simpática cutânea é afectada desde o início. (9)

A única terapêutica com eficácia comprovada é o transplante hepático (visto cerca de 90% da TTR ser produzida no fígado), que estabiliza a neuropatia. (2,3,9) Em 2007 foi realizado um ensaio clínico de fase II/III, ainda não publicado, com o objectivo de confirmar o efeito de um novo fármaco, o Tafamidis meglumine (FX-10006A), na evolução da doença, baseado no pressuposto de que ao inibir a deposição da proteína anormal travar-se-á a evolução da PAF. (15) Após ter sido considerado eficaz em 60% dos doentes, aguarda-se a sua disponibilização em Portugal e a validação nacional pelo Infarmed, europeia pelo European Medicines Agency (EMA) e nos Estados Unidos da América (EUA) pelo Food and Drug Administration (FDA). (7,16)

Os métodos de prevenção disponíveis são o diagnóstico pré-implantatório (na fecundação in vitro) e pré-natal (na amniocentese, o que permite a interrupção voluntária da gravidez). (3)

1.4 Origem da Doença

Apesar de se terem descrito, posteriormente, casos espalhados pelo país, o facto da maioria dos doentes ter residência ou naturalidade na região de Póvoa de Varzim/Vila do Conde levou vários autores a sugerirem uma origem comum da doença, num único gene mutante proveniente deste foco há 500 anos (segundo Klein) ou há 150 anos (segundo Becker). (1,6,12) De seguida o gene espalhou-se pela região, entre as famílias e, através das viagens dos pescadores, pela costa portuguesa. (1,2,6,17) Ao chegar à Figueira da Foz disseminou-se para o interior, até Unhais da Serra, seguindo as ligações comerciais e agrícolas. (1,2,6) A existência de uma estância termal famosa para o tratamento do reumatismo, nesta última região, terá influenciado. (17)

A mesma mutação genética também está presente no Japão, Suécia, Maiorca, Brasil, EUA e Alemanha. (1,16,17,18) Os navegadores, na época dos Descobrimentos (século XV), e os emigrantes portugueses, na revolução industrial (século XX), terão contribuído para a disseminação mundial da PAF. (17)

1.5 Heterogeneidade Genética e Variabilidade Fenotípica

Além do reconhecimento de uma grande heterogeneidade genética, o diagnóstico da doença em diversos focos e em muitas famílias dispersas pelo mundo mostrou uma grande variabilidade fenotípica. (1)

A comparação de dois outros focos de doença no Japão e na Suécia, relacionados com a mutação TTR^{Met30} , mostrou uma grande variedade na idade de início da doença - os doentes japoneses têm uma idade média de início semelhante aos portugueses inicialmente descritos mas os doentes suecos têm um início mais tardio. (1,10,11,19)

As diferenças que sobressaíam das descrições de Andrade (5), por um lado, e das de Rosário et al (14) e Becker et al (13), por outro, entre Póvoa de Varzim/Vila do Conde e a região da Serra de Estrela encontram-se hoje em todo o mundo, em focos com a mesma ou outra mutação. (1)

A explicar a discrepância nas idades de início entre Póvoa de Varzim/Vila do Conde e Covilhã poderão estar factores genéticos ou ambientais. (1) Segundo Sequeiros e Saraiva, uma ou mais modificações genéticas ou factores genéticos como os que determinam o envelhecimento e longevidade poderiam interferir com a TTR^{Met30} mutante e determinar a idade de início da manifestação sintomática, evolução da doença, ou mesmo a ausência de sintomatologia. (1)

Em famílias com penetrância diminuída, a doença pode surgir em indivíduos com poucos antecedentes familiares conhecidos de PAF (os familiares podem permanecer assintomáticos) e numa idade já tardia, o que dificulta o diagnóstico. (1,9,10,20) Todavia, há sempre um progenitor portador da mutação, que pode ter uma forma tardia da doença e, conseqüentemente, morrer antes da Paramiloidose se expressar, ou encará-la como envelhecimento natural. (1,2,10,11,19,21) Existem, assim, portadores da mutação que nunca

expressam a doença. (1,2,11) A constatação de que os portadores da mutação podem permanecer assintomáticos até aos 90 anos de idade ajuda a corroborar este facto. (10,18)

1.6 Objectivos Deste Estudo

Em Portugal existe o maior foco da doença descrito no mundo: entre 1939 (data das primeiras observações de Andrade) e 31 de Dezembro de 2010 foram observados no Hospital Geral de Santo António (HGSA), no Centro Hospitalar do Porto (CHP), 2546 doentes pertencentes a 600 famílias não relacionadas entre si e provenientes de diversos pontos do país (segundo dados fornecidos pela Unidade Clínica de Paramiloidose - UCP).

Em meados dos anos 80, iniciou-se uma consulta reservada à PAF no Núcleo de Paramiloidose, em Unhais da Serra; em 1995 esta passou a ser feita, distritalmente, no Centro de Saúde (CS) da Covilhã, contando, já, com 900 utentes inscritos (segundo dados fornecidos pelo CS da Covilhã). Começaram, depois, a surgir no Serviço de Neurologia do HGSA doentes provenientes dos concelhos da Covilhã e de Seia, referenciados a partir do Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB) ou Centro de Saúde (CS) da Covilhã. (4)

Apesar da doença já ter sido estudada separadamente nos concelhos da Covilhã e Póvoa de Varzim/Vila do Conde, não houve ainda nenhuma investigação que comparasse estes dois focos. Assim achou-se pertinente e desafiador elaborar um estudo em que o objectivo principal fosse a caracterização epidemiológica, clínica e genética da doença em doentes/portadores naturais do concelho da Covilhã e o objectivo secundário fosse a sua comparação com os doentes naturais dos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Como objectivos específicos destacam-se:

1. Descrever algumas características epidemiológicas da doença no concelho da Covilhã, estudando o ano do diagnóstico dos casos, a proporção de doentes por género, a idade de início da doença, a sua duração e a situação de transplante hepático (transplantado, com contra-indicações, em preparação ou em lista de espera para o transplante);
2. Analisar dados familiares nesta região, como a situação do progenitor transmissor (com sinais de doença, sem sinais) e o transmissor da mutação (mãe, pai, ambos ou desconhecido);
3. Estudar a distribuição geográfica (por freguesias) dos doentes/portadores na Covilhã;
4. Comparar alguns dados dos doentes da Covilhã com os dos doentes provenientes dos concelhos de Póvoa de Varzim e Vila do Conde, nomeadamente a proporção por género, idade de início, situação do progenitor transmissor e transmissor da mutação.

Considerando os objectivos supracitados formularam-se algumas hipóteses de investigação:

1. A doença é mais prevalente e precoce no género masculino, no concelho da Covilhã.
2. Existe um maior número de casos tardios e isolados no foco da Covilhã, em comparação com Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

2 Materiais e Métodos

2.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo observacional, descritivo, transversal, de prevalência e com carácter retrospectivo. Recorreu-se a uma metodologia quantitativa.

2.2 População em Estudo

A amostra do estudo é composta, por um lado, pelo universo de todos os doentes com diagnóstico de PAF (sintomáticos), e portadores da mutação (assintomáticos), vivos ou falecidos, naturais do concelho da Covilhã (com processo clínico no CHCB, CS da Covilhã e/ou UCP); por outro lado, por todos os doentes, vivos ou falecidos, com o mesmo diagnóstico, naturais dos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde (registados na UCP).

Os dados obtidos retratam o intervalo temporal máximo de 1939 a 31 de Dezembro de 2010.

De um total de 252 indivíduos com origem na Covilhã, 152 (pertencentes a 34 famílias não relacionadas) correspondiam a doentes ou portadores da mutação. Os restantes 100 foram excluídos por se tratarem de indivíduos suspeitos para a mutação que se recusaram a confirmá-la pelo diagnóstico molecular (pesquisa de TTR^{Met30}) ou negativos para a mesma.

A amostra com proveniência em Póvoa de Varzim/Vila do Conde era composta por 738 doentes (pertencentes a 114 famílias diferentes).

Neste estudo os concelhos de Póvoa de Varzim e Vila do Conde foram considerados como um único foco geográfico pois, por um lado, a região com maior prevalência de casos (Caxinas) situa-se na fronteira das duas e, por outro, algumas das suas freguesias já pertenceram a um e a outro concelho ao longo do tempo. (1)

2.3 Recolha de Dados

Foram pesquisados todos os processos clínicos dos doentes naturais do concelho da Covilhã no CHCB (arquivados em papel ou em formato digital: Sistema de Apoio ao Médico - SAM) e CS da Covilhã (em papel). Na UCP explorou-se a base de dados de doentes e portadores do mesmo foco geográfico e de doentes dos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

Os dados obtidos retratam o intervalo de 1939 (ano em que o primeiro doente foi observado por Andrade) a 31 de Dezembro de 2010.

O Gabinete de Estudos, Planeamento e Informação para a Gestão (GEPI) do CHCB identificou 41 indivíduos com o diagnóstico de PAF (correspondente ao código 2773) no período de 1 de Janeiro de 1988 a 31 de Dezembro de 2009. Foram consultados os processos destes doentes em arquivos de papel e no SAM. Numa tentativa de complementação foram,

depois, pesquisados, no SAM e em formato papel, os processos dos indivíduos que, apesar de constarem nos registos do UCP, não estavam incluídos na lista inicial de doentes fornecida pelo GEPI, obtendo-se dados de 19 doentes adicionais. Consultaram-se, no total, processos de 60 doentes (50 processos em papel e 58 no SAM). Dezasseis doentes foram excluídos por não terem origem na Covilhã.

No CS foram pesquisados todos os processos, em formato papel, de doentes e indivíduos com ligação às famílias afectadas, diagnosticados desde 1984 (ano de início da Consulta de Paramiloidose).

Foi analisada a base de dados dos doentes inscritos na UCP, no período de 1939 a 31 de Dezembro de 2010: 152 doentes/portadores provenientes da Covilhã e 738 doentes naturais de Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

Numa fase subsequente, a informação relativa aos doentes da Covilhã foi comparada com a dos doentes de Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

A análise dos processos do CHCB e CS permitiu complementar a base de dados da UCP sem, contudo, ter aumentado o número de doentes, para além dos já reconhecidos pela UCP.

2.4 Variáveis

Em relação à Covilhã foram recolhidos e analisados dados referentes à amostra geral (doentes e portadores) e também especificamente aos doentes. Quanto à amostra geral estudou-se o ano de diagnóstico de PAF e a freguesia de residência. Em relação aos doentes investigou-se a distribuição por género, idade de início da doença, duração da doença, situação de transplante hepático (transplantado, com contra-indicações, em preparação ou em lista de espera para o transplante), transmissor da mutação (mãe, pai, ambos ou desconhecido) e situação do progenitor transmissor (com sinais de doença, sem sinais).

Seguidamente foi feita uma breve caracterização dos doentes do foco de Póvoa de Varzim/Vila do Conde, nomeadamente a distribuição por género, idade de início da doença e por género, transmissor da mutação e situação do progenitor.

Realizou-se, depois, uma comparação entre os doentes dos dois focos quanto à distribuição por género, idade de início da doença (geral e por género), transmissor da mutação e situação do progenitor transmissor.

Foi analisada a árvore genealógica de uma família “de novo” proveniente da Covilhã.

2.4.1 Definição da idade de início e duração da doença

A idade de início considerada foi, à semelhança do critério usado pela UCP, a idade de manifestação dos primeiros sintomas.

2.4.2 Definição da duração da doença

A duração da doença foi calculada pela diferença entre a idade de morte e a idade de início.

2.5 Metodologia Estatística

A descrição dos dois focos, individualmente, foi feita pelo cálculo das frequências, médias, desvios-padrão, número máximo e número mínimo, no que diz respeito às variáveis contínuas como a idade de início da doença.

Após a verificação dos pressupostos de que as observações dentro de cada grupo tinham uma distribuição normal, eram independentes entre si e de que as variâncias de cada grupo eram iguais entre si, ou seja, havia homocedasticidade, foi feita uma comparação posterior da doença na Covilhã e Póvoa de Varzim/Vila do Conde através dos testes paramétricos:

-Teste t-Student, no caso da comparação de variáveis contínuas, como as idades de início da doença entre os géneros - no foco da Covilhã- e entre os dois focos. Usou-se um intervalo de confiança de 95%.

-Teste de Qui-quadrado, na comparação entre variáveis categóricas, como o transmissor da mutação e as famílias “de novo”.

A análise estatística foi feita usando o programa estatístico SPSS versão 18.0, e os resultados foram considerados significativos para $p < 0,05$.

3 Resultados

3.1 Descrição da Amostra dos Dois Focos

Neste estudo analisaram-se dados provenientes de 890 indivíduos (pertencentes a 148 famílias diferentes): 152 doentes/portadores naturais do concelho da Covilhã (34 famílias) e 738 doentes dos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde (114 famílias).

3.2 Foco da Covilhã

3.2.1 Amostra Geral (doentes e portadores)

3.2.1.1 Descrição da amostra

Dos 152 indivíduos (72 homens e 80 mulheres) estudados neste foco, 53 (22 homens e 31 mulheres) são portadores (assintomáticos) da mutação e 99 são doentes (sintomáticos).

3.2.1.2 Diagnóstico de PAF

Os primeiros doentes/portadores diagnosticados no HGSA, em 1969, pertencentes a famílias com origem na Covilhã, não residiam no concelho mas em Lisboa e Coimbra. O primeiro doente residente na Covilhã foi diagnosticado em 1973.

A figura 1 mostra a evolução do diagnóstico de PAF ao longo dos anos, desde o período anterior a 1981 até 2010.

De 1981 a 1985 foram diagnosticados o maior número de doentes/portadores (24) e famílias (11). De 1986 até 2010 o número aumentou.

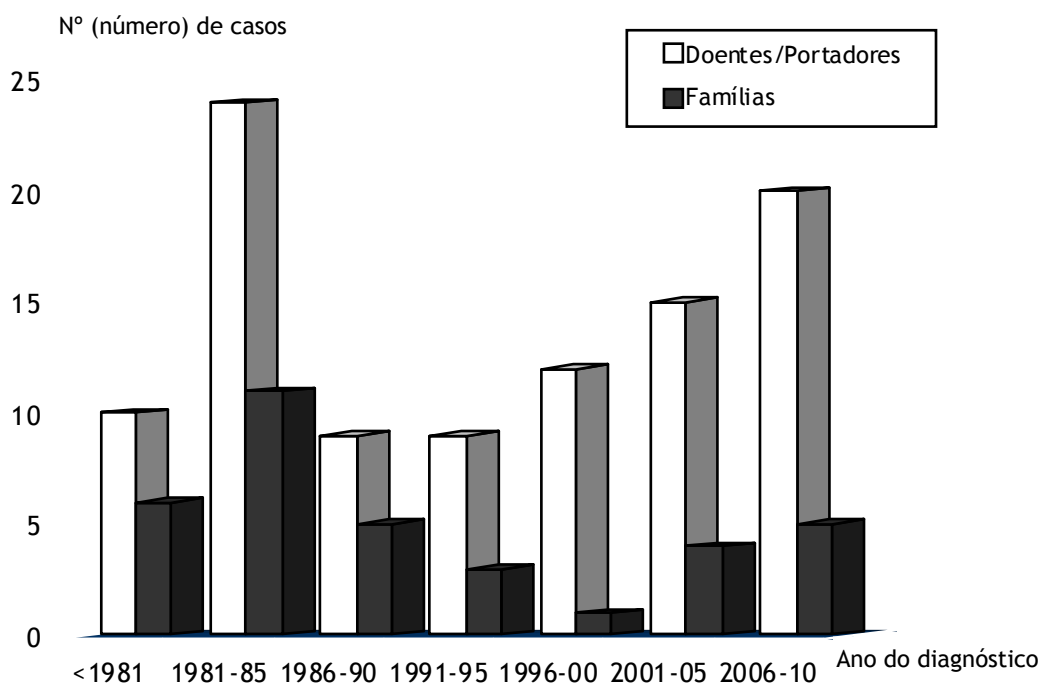


Figura 1. Distribuição dos doentes/portadores e famílias por ano de diagnóstico

3.2.1.3 Local de residência e distribuição pelas freguesias do concelho da Covilhã

Dos 152 doentes e portadores pertencentes a famílias com origem na Covilhã, apenas 77 residiam no concelho à data do diagnóstico. A maioria dos restantes residia na região da Grande Lisboa.

A figura 2 mostra a distribuição destes 77 indivíduos pelas freguesias do concelho: a maior parte dos doentes residia nas freguesias de Unhais da Serra (20 casos), cidade da Covilhã (18) e Erada (17). A distribuição era muito assimétrica, havendo cidades em que se desconhecia a existência de doentes.



Figura 2. Distribuição dos doentes/portadores naturais do concelho por freguesia de residência à data de diagnóstico

3.2.2 Doentes

3.2.2.1 Distribuição por género

Dos 99 doentes, 50 são do género masculino e 49 do género feminino, perfazendo uma proporção Homem:Mulher (H:M) = 1,0.

3.2.2.2 Idade de início da doença

A idade de início da doença distribui-se entre os 23 e os 74 anos, com uma média de 40,4 anos - desvio padrão (dp) 13,4 anos.

A figura 3 ilustra a distribuição da idade de início na amostra geral e por género. Esta variável não é significativamente diferente entre os homens e mulheres: 39,7 ±14,5 versus (vs) 41,2 ± 12,3, respectivamente, com p=0,6 pelo teste T-student.

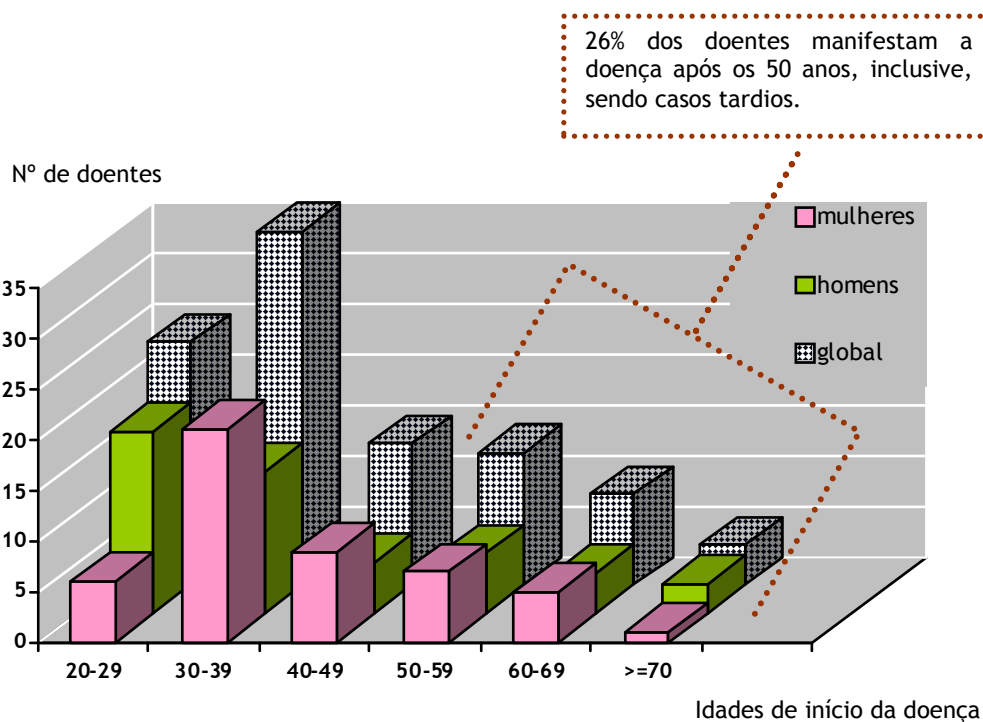


Figura 3. Distribuição da idade de início da doença no geral e por género

3.2.2.3 Duração da doença

Dos 99 doentes estudados, 36 estavam vivos em 31 de Dezembro de 2010. A duração média da doença nos doentes falecidos é de $11,1 \pm 4,2$ anos, com uma variação entre 1 e 19 anos.

3.2.2.4 Transplante hepático

58 doentes foram diagnosticados depois de 1990, ano de introdução do transplante hepático como tratamento da Paramiloidose. Destes, 30 (52,0%) foram submetidos a transplante, 14 (24,0%) tinham alguma contra-indicação para este tratamento à data do diagnóstico (incluindo outras doenças ou idade avançada) e 14 estão, actualmente, em preparação ou lista de espera.

3.2.2.5 Transmissor da mutação

Ao analisar o transmissor da mutação, nas 34 famílias, encontrou-se a distribuição descrita na tabela 1.

A mãe transmite a doença mais vezes que o pai (56,6% vs 25,2%, respectivamente).

Em 13 casos não foi possível identificar o progenitor transmissor, uma vez que não existiam outros familiares afectados nas gerações anteriores ou colaterais, nem havia sido possível testar os pais dos doentes.

Cinco doentes, de duas fratrias, têm os dois progenitores portadores da mutação, sendo 3 deles homocigotos.

Tabela 1. Distribuição dos doentes segundo o transmissor da mutação

Transmissor	Nº de doentes	Percentagem (%)
Pai	25	25,2
Mãe	56	56,6
Ambos	5	5,0
Desconhecido	13	13,2

3.2.2.6 Situação do progenitor transmissor em relação à doença

Analisando a situação do progenitor transmissor, à data do início dos sintomas nos doentes, encontram-se 38 progenitores (26,3%) sem descrição da doença e 61 progenitores (73,7%) com descrição ou mesmo diagnóstico confirmado da doença.

3.2.2.7 Famílias “de novo”

Ao considerar apenas os probandos de cada família, ou seja o primeiro caso a ser diagnosticado em cada família, 17 doentes (50,0%) descrevem doença nos progenitores (casos familiares), em outros 17 a doença é diagnosticada na ausência de quaisquer antecedentes de doença semelhante (casos isolados, pertencem a famílias “de novo”).

3.2.2.8 Análise de uma árvore genealógica

A árvore genealógica da figura 4 mostra o que é uma família “de novo”: um caso em que o probando não descreve doença nas gerações anteriores. Posteriormente, o teste genético na mãe mostrou que esta era a transmissora, embora sem sinais de doença.

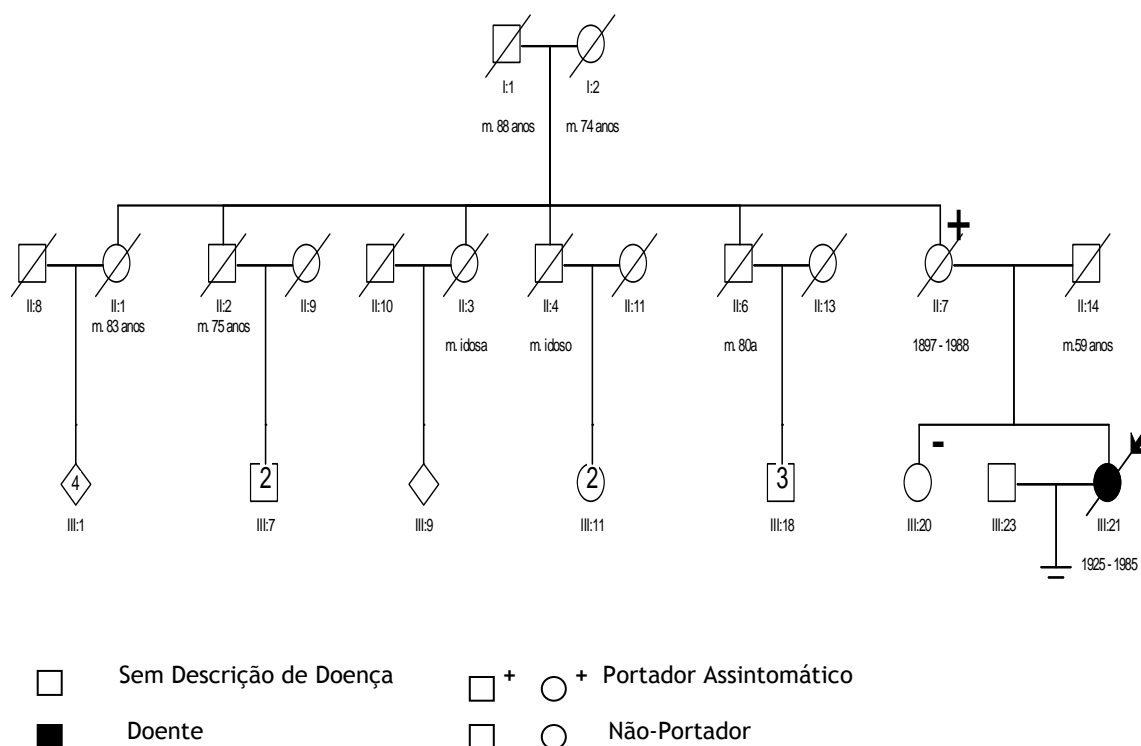


Figura 4. Árvore genealógica de uma família “de novo” da Covilhã

3.3. Comparação com o foco de Póvoa de Varzim/Vila do Conde

3.3.1 Breve Descrição da Amostra de Póvoa de Varzim/Vila do Conde

3.3.1.1 Distribuição por género

Dos registos da UCP constam 738 doentes (pertencentes a 114 famílias) com origem nos concelhos de Póvoa de Varzim e Vila do Conde: 408 do género masculino e 330 do género feminino, perfazendo uma razão H:M de 1,2.

3.3.1.2 Idade de início da doença

A idade média de início da doença é de $31,3 \pm 7,1$ anos. Nas mulheres a idade é significativamente mais alta do que nos homens ($33,9 \pm 7,2$ anos vs $29,2 \pm 6,2$ anos, respectivamente, com $p < 0,001$ pelo teste t-Student).

3.3.1.3 Transmissor da mutação

A tabela 2 mostra a distribuição dos progenitores transmissores pelo género. A mãe transmite a doença em 54,4% dos casos e o pai em 41,3% (diferença estatisticamente significativa, $p < 0,05$).

Tabela 2. Distribuição dos doentes segundo o transmissor da mutação

Transmissor	Número doentes	Percentagem (%)
Pai	305	41,3
Mãe	402	54,4
Ambos	5	0,7
Desconhecido	24	3,3
Ignorado *	2	0,3

* Dois doentes desconhecem a sua família de origem pelo que não foi possível classificar a situação dos progenitores.

3.3.1.4 Situação dos progenitores transmissores em relação à doença

Em relação aos doentes que herdaram a doença tanto do pai como da mãe, ambos os progenitores estavam doentes.

Das 402 mães transmissoras apenas 10 (2,5%) não têm descrição ou diagnóstico de doença. Dos 305 pais que se sabe terem sido os transmissores, 8 (2,6%) também não têm descrição ou diagnóstico de doença. Por definição, os progenitores desconhecidos consideraram-se, também, casos sem doença. Assim, 3,3% dos doentes não têm progenitores afectados ou identificados.

3.3.1.5 Famílias “de novo”

Ao considerar apenas os probandos, verifica-se que nas 114 famílias apenas 16 probandos (14,3%) não descrevem a doença nas gerações anteriores, ou seja apenas 16 famílias em 112 podem ser classificadas como “de novo”, já que em dois casos o desconhecimento da família de origem, por parte dos probandos, impede qualquer classificação.

3.3.2 Comparação da Doença entre os Dois Focos

3.3.2.1 Comparação epidemiológica

A comparação entre os doentes da Covilhã e de Póvoa de Varzim/Vila do Conde está resumida na tabela 3.

As médias da idade de início da doença na Covilhã (no geral e por género) são significativamente mais altas do que os respectivos valores nos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde - teste T-student, $p < 0,001$.

O primeiro foco tem a maior proporção de casos tardios.

Tabela 3. Comparação epidemiológica entre os dois focos

	Covilhã	Póvoa de Varzim/ Vila Conde
Proporção H:M	1,0:1,0	1,2:1,0
Idade de início no global (anos)	40,4± 13,4	31,3 ± 7,1
Idade de início nos homens (anos)	39,7± 14,5	29,2 ± 6,2
Idade de início nas mulheres (anos)	41,2 ± 12,3	33,9± 7,2
Casos tardios (> 50 anos) (%)	26,0	2,9

3.3.2.2 Comparação do transmissor da mutação

Como se observa pela tabela 4, a percentagem de casos em que o progenitor transmissor é a mãe é superior àqueles em que é o pai, nos dois focos: 56,6% vs 25,2% respectivamente, na Covilhã; e 54,4% vs 41,3% no segundo foco.

Tabela 4. Comparação epidemiológica entre os dois focos

Transmissor	Covilhã (%)	Póvoa de Varzim/ Vila do Conde (%)
Pai	25,2	41,3
Mãe	56,6	54,4
Ambos	5,0	0,7
Desconhecido	13,2	3,3
Ignorado	0,0	0,3

3.3.2.3 Comparação das famílias “de novo”

Ao analisar os probandos, a prevalência da descrição da doença em gerações anteriores (50,0%) é igual à da sua ausência, no primeiro foco. Em relação ao segundo foco, a prevalência de casos com antecedentes familiares conhecidos de PAF (85,7%) é superior à de casos sem antecedentes conhecidos (14,3%). Assim, na primeira região está-se perante 50,0% de casos isolados, e na segunda 14,3%.

A comparação destas proporções pelo teste do Qui-Quadrado mostra diferenças estatisticamente significativas entre as proporções ($p < 0.001$).

Tabela 5. Comparação das “famílias de novo”

	Covilhã	Póvoa de Varzim/ Vila Conde
Probandos com descrição de doença nas gerações anteriores (%)	17 (50,0)	96 (85,7)
Probandos sem descrição da doença nas gerações anteriores (%)	17 (50,0)	16 (14,3)
Total (%)	34 (100,0)	112 (100,0)

4 Discussão

Este é o primeiro estudo a nível nacional que, após caracterizar a PAF no concelho da Covilhã, faz uma breve comparação com a sua manifestação nos concelhos de Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Da análise dos resultados não se concluiu a maior prevalência ou precocidade da doença no género masculino, no foco do interior do país. A comparação entre os dois focos revela que é a Covilhã que alberga um maior número de casos tardios e também (ao considerar apenas os probandos) de casos isolados.

4.1 Limitações do estudo

Relativamente à metodologia usada, a pesquisa de processos clínicos no CHCB e CS da Covilhã deveria ter sido referente ao mesmo espaço temporal que a dos dados da UCP. Tentou-se, contudo, pelos métodos já referidos complementar a informação.

Apesar da amostra deste estudo ter contemplado todos os doentes, portadores e famílias naturais do foco da Covilhã diagnosticados no CS, CHCB e/ou UCP e todos os doentes e famílias dos focos de Póvoa de Varzim/ Vila do Conde diagnosticados na UCP, esta é certamente uma doença sub-diagnosticada, ainda pouco conhecida, principalmente no segundo foco. Haverão muitos casos por diagnosticar, que poderão, porventura, alterar os resultados deste estudo.

Devido à inexistência de uma base de dados sistematizada e comum entre as várias zonas do país, a informação e os parâmetros da doença avaliados não são uniformes, havendo, por isso, uma falha no registo de alguns dados.

4.2 A PAF na Covilhã

A própria análise dos anos de diagnóstico no primeiro foco revela uma tendência crescente na detecção da doença, o que, se por um lado poderá reflectir uma eficácia progressiva no seu diagnóstico, por outro lado, poderá indicar que os casos que hoje se conhecem podem ainda não traduzir a verdadeira disseminação da PAF. O grande número de doentes e portadores diagnosticados de 1981 a 1985 explica-se pela introdução do diagnóstico molecular (em 1984) e pela criação da Consulta de Paramiloidose no concelho da Covilhã.

A amostra do primeiro foco concentra-se em 3 freguesias de residência principais: Unhais da Serra (20 doentes ou portadores), Covilhã (18) e Erada (17). O primeiro foco poderá ser compreendido, com base na hipótese de Morais (6), no pressuposto que o gene mutado ter-se-á disseminado do litoral até Unhais da Serra, no século XVII, influenciado pela existência de uma estância termal nesta zona para tratamento da doença do foro reumático. (17)

Esta amostra não tem predomínio de género, a razão H:M é de 1,0, o que não só não se assemelha à amostra de Póvoa de Varzim/Vila do Conde (como se verá entretanto), como não

é concordante com a literatura pesquisada, que defende o maior atingimento do género masculino. (1,2,5,11)

A idade média de início é $40,4 \pm 13,4$ anos (varia entre 23 e 74 anos). Detectaram-se 26% de doentes com manifestação de PAF após os 50 anos, inclusive, que constituem casos tardios. A idade de início não difere significativamente entre homens e mulheres ($39,7 \pm 14,5$ anos vs $41,2 \pm 12,3$ anos respectivamente, $p=0,6$), divergindo do pressuposto de que os homens são afectados mais precocemente. (1,2,5,15)

A doença tem uma duração calculada de 11,1 anos, próxima da obtida no estudo de Sousa (1) (10,8 anos), confirmando a evolução progressiva e inexorável para a morte na maioria dos casos.

Dos doentes diagnosticados depois do advento do transplante hepático, uma percentagem significativa (52,0 %) foi submetida a transplante.

Verificou-se haver uma maior prevalência de mulheres transmissoras da mutação em relação aos homens (56,6% vs 25,2%, respectivamente), tanto nesta zona, como em Póvoa de Varzim/Vila do Conde (54,4% vs 41,3%, respectivamente com $p<0,05$) o que se poderá relacionar aos achados de Sousa et al. (18), que demonstravam que o género feminino afectado tinha um maior número de filhos e uma maior duração do período reprodutivo comparativamente ao género masculino.

Ao analisar a situação dos progenitores transmissores da mutação, verifica-se haver uma maior prevalência de progenitores afectados pela doença (73,7%) do que não afectados (26,3%). Contudo, considerando-se apenas os probandos de cada família, o número de casos isolados é igual ao de casos familiares. O seguimento destas famílias, pela UCP, que permitiu o diagnóstico de novos doentes em outros ramos da família e o estudo molecular dos progenitores, comprovou que a mutação estava presente nas gerações anteriores, mas sem manifestação clínica, e que estes 17 casos não correspondiam a mutações “de novo”, o que corrobora a bibliografia consultada. (1,10) A árvore genealógica apresentada é um destes exemplos.

4.3 Comparação da PAF entre os concelhos da Covilhã e de Póvoa de Varzim/Vila do Conde

Comparando a Covilhã com a zona de Póvoa de Varzim/Vila do Conde, observa-se que a doença é mais prevalente no género masculino apenas no segundo foco, com uma razão H:M de 1,2. Este dado contrasta com a razão de 1,0 obtida na Covilhã.

Apesar da idade de início da doença, na Covilhã, não ser significativamente diferente entre os géneros, ao analisar o foco do Litoral Norte verifica-se que, à semelhança da literatura (5,13), os homens manifestam, neste foco, a doença mais cedo. Apesar das idades médias da literatura (13) não coincidirem com as encontradas no estudo, esta relação mantém-se.

Estas duas constatações divergentes poderão ter explicação, como já se referiu, na subvalorização, por parte de alguns profissionais de saúde, do diagnóstico da PAF na Covilhã, com um consequente falseamento dos resultados. Poderão haver muitos homens na Beira Interior que não estão, ainda, diagnosticados. No entanto, não se deve excluir a possibilidade dos dados traduzirem uma realidade. A doença foi já muito estudada por vários autores no Litoral Norte (1,3,5,11,13,14) - no seu local de origem - e todos eles sublinharam o seu domínio e maior prematuridade nos homens. Alda (1), mais cuidadosa, explicou este facto pela maior procura de assistência médica deste género. No entanto, deve ser realçado que poucos autores caracterizaram a doença no interior do país. Estes dados podem, assim, traduzir uma realidade ainda desconhecida. Novos estudos serão necessários para aprofundar esta discussão.

Ainda em relação à idade de início da doença, esta manifesta-se 9,1 anos mais tarde na Covilhã que em Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Tanto na amostra geral como categorizando por género, aqui é mais tardia. Encontraram-se 26% de casos tardios nesta região vs 2,9% no foco do norte. Este achado é congruente com as descrições de Becker et al (13) e Rosário et al (14) de um número considerável de casos tardios no primeiro foco.

Quanto à situação dos progenitores, a Covilhã destaca-se pela maior prevalência, estatisticamente significativa, de casos sem progenitores afectados (casos isolados) aquando a análise dos probandos (50,0% na Covilhã vs 14,3% em Póvoa de Varzim/Vila do Conde, com $p < 0,001$) e de todos os casos. Os resultados estão em conformidade com os achados de Becker et al (13): esta zona é conhecida, precisamente, por ter uma grande expressão de casos isolados.

Em resumo, a amostra da Covilhã, deste estudo, revelou ser diferente da amostra de Póvoa de Varzim/Vila do Conde, tanto da analisada inicialmente por Andrade (5) como da estudada aqui. Podemos estar perante um foco em que a doença se manifesta de forma distinta, pela interacção de factores genéticos/ambientais. A evolução dos conhecimentos adquiridos sobre Paramiloidose desde 1952 pode contribuir, igualmente, para esta diferença. Na Covilhã, a PAF não predomina nem se inicia mais precocemente em nenhum género. A prevalência de casos tardios e isolados é superior à existente na região de Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

5 Perspectivas futuras

Serão necessários estudos posteriores no concelho da Covilhã para a caracterização epidemiológica dos doentes, de forma a poder confirmar a igual proporção da doença e a idade de início entre os géneros.

Ensaio comparativos entre as duas zonas geográficas aqui tratadas também ajudarão a reiterar o predomínio de casos isolados e tardios na Covilhã. Variáveis novas poderão ser introduzidas como, por exemplo, os primeiros sintomas de PAF e as manifestações predominantes (sensitivas, motoras, autonómicas) para uma melhor descrição do fenótipo da doença e, conseqüentemente, uma maior correlação com o genótipo.

A interacção entre os factores genéticos e ambientais, na expressão do gene da PAF, permanece uma especulação, precisando pois de ser aprofundada. Poder-se-á estar perante várias mutações genéticas, diferentes “backgrounds” ou ambientes tão distintos que justifiquem as desigualdades. Deverão ser aprofundados estudos de genética molecular sobre os haplótipos associados à PAF no povo português, genealogia, epidemiologia geográfica e epidemiologia genética. (6)

Será importante, também, a elaboração de uma base de dados comum e sistematizada, em rede, a nível nacional, referente à Paramiloidose, de forma a uniformizar os dados da população portuguesa. No futuro, a criação de uma base de dados mundial será promissora e ajudará a responder a algumas questões, nomeadamente sobre a dicotomia genótipo/ambiente, que permanecem, ainda, em aberto.

6 Lista de Referências

1. Sousa A. A variabilidade fenotípica da polineuropatia amiloidótica familiar: Um Estudo de Genética Quantitativa em Portugal e na Suécia. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto; 1995.
2. Abreu B, Reis N, Silva Rute. Uma história de vida, uma herança genética [dissertação]. Leiria; 2006.
3. Luís MLS. Polineuropatia amiloidótica familiar do tipo português: do artigo original ao futuro. Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia. 2006; 6 (1 Supl 1): 40-2.
4. Planté-Bordeneuve V, Lalu T, Misrahi M, Reilly MM, Adams D, Lacroix C et al. Genotypic-phenotypic variations in a series of 65 patients with familial amyloid polyneuropathy. American Academy of Neurology. 1998; 51: 708-14.
5. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy. Brain. 1952; 75: 408-27.
6. Morais AR. Perseguindo um gene... Que caminhos?. Guimarães: Núcleo de estudos de População e Sociedade; 2004.
7. Associação portuguesa de paramiloidose [homepage na Internet]; [actualizada em 2009]. Fármaco travou doença dos pezinhos num ensaio clínico; [aproximadamente 2 telas]. Disponível em: http://www.publico.pt/Ciências/farmaco-travou-doenca-dos-pezinhos-num-ensaio-clinico_1392864.
8. Galvão M., Sousa G., Luís MLS, Serrão R, Chabert T, Fleming R. Plasmaférese terapêutica na polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) tipo português. Boletim Hospital (HGSA, Porto). 1988 Dez; 3 (9): 149-153.
9. Conceição I. Clínica e história natural da polineuropatia amiloidótica familiar. Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia. 2006; 6 (1 Supl 1): 86-91.
10. Coelho T, Sousa A, Lourenço E, Ramalheira J. A study of 159 portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) whose parents were both unaffected. J Med Genet. 1994; (31): 293-9.
11. Sousa A. Epidemiologia genética da polineuropatia amiloidótica familiar. Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia. 2006; 6 (1 Supl 1): 74-9.

12. Coelho T. Diagnóstico clínico da polineuropatia amiloidótica familiar. Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia. 2006; 6 (1 Supl 1): 134-7.
13. Becker PE, Antunes L, Rosário MR, Barros F. Paramyloidose der peripheren nerven in Portugal. Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre. 1964; 37: 329-364.
14. Rosário MR, Antunes L, Barros F. Contributo para o estudo clínico e laboratorial da paramiloidose de Corino de Andrade. J Soc Cien Méd. 1964; 75: 1-46.
15. National Horizon Scanning Centre. Tafamidis for transthyretin amyloid polyneuropathy. Birmingham: University of Birmingham; 2010 Ap.
16. Medicamentos para a paramiloidose. Jornal de Vila do Conde. 2011 Maio 19: 5 (col. 4).
17. Lobão C. Filhos da paramiloidose [dissertação]. Escola Superior de Altos Estudos; 2004.
18. Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)-type I in Pova de Varzim and Vila do Conde (North of Portugal). Am J Med Genet. 1995 Dec 18; 60(6): 512-521.
19. Coutinho P, Ribeiro Isabel. A forma tardia da polineuropatia amiloidótica familiar. Boletim Hospital (HGSA, Porto). 1988 Dez; 3 (9): 57-62.
20. Lima AB, Silva AM. A Clinical evaluation of late-onset cases in type I (Andrade) amyloid neuropathy. Amyloid and Amyloidosis. Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, editors. 1980: 88-98.
21. Sousa A, Lobato I, Sequeiros J. Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (Português, Andrade) - variação familiar e modelos genéticos. Boletim Hospital (HGSA, Porto). 1988 Dez; 3 (9): 63-9.

7 Bibliografia

- Sakoda S, Suzuki T, Higa Sadayoshi, Ueji M, Kishimoto S, Hayashi A et al. The genetic studies of familial amyloid polyneuropathy in the Arao district of Japan: I. the genealogical survey. *Clinical Genetics*. 1983. 24: 334-8.
- Sakoda S, Suzuki T, Higa S, Ueji M, Kishimoto S, Wada Y et al. The genetic studies of familial amyloid polyneuropathy in the Arao district of Japan: II. Studies of genetic markers in blood. *Jpn. J. Human Genet*. 1984. 25: 51-7.
- Luís MLS, Alves MM, Serrão R, Saraiva MJ, Costa P, Coutinho P. Estudos electroneurofisiológicos em familiares de doentes com polineuropatia amilóide familiar (PAF) - correlação com a presença de transtirretina anormal (AFp). *Boletim Hospital (HGSA, Porto)*. 1988 Dez; 3 (9): 103-7.
- Costa PP, Saraiva MJM. Amilóide, transtirretina e nervo periférico - estudos etiopatogénicos (revisão). *Boletim Hospital (HGSA, Porto)*. 1988 Dez; 3 (9): 109-26.
- Almeida MR, Yoshioka K, Sasaki H, Sasaki Y, Costa PP, Saraiva MJM. Análise de polimorfismos de DNA em famílias com polineuropatia amiloidótica familiar (PAF). *Boletim Hospital (HGSA, Porto)*. 1988 Dez; 3 (9): 133-9.
- Vieira B. Polineuropatia Amiloidótica Familiar (PAF) tipo I: uma visão actual, de um problema de saúde antigo [dissertação]. Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2008.
- Lobato L. Classificação das amiloidoses. *Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia*. 2006; 6 (1 Supl 1): 68-73.
- Sousa MM, Guimarães A, Fernandes R, Amaral JB, Saraiva MJ. Patologia molecular associada à polineuropatia amiloidótica familiar. *Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia*. 2006; 6 (1 Supl 1): 80-85.
- Costa PP. Diagnóstico molecular da polineuropatia amiloidótica familiar. *Sinapse Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia*. 2006; 6 (1 Supl 1): 138-42.