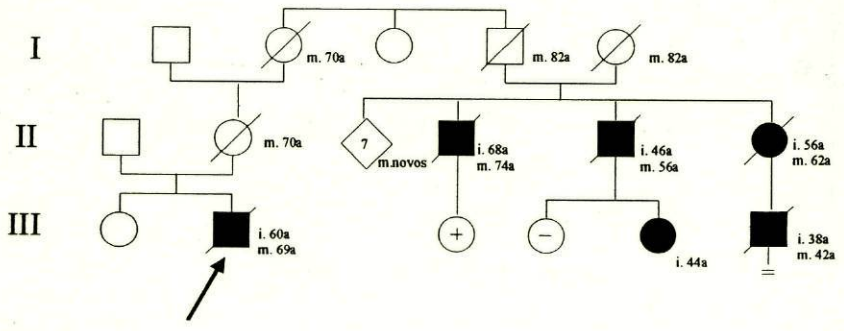
Alda Sousa

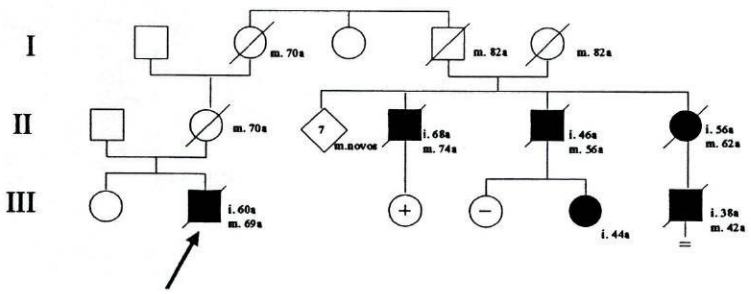
A VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR: UM ESTUDO DE GENÉTICA QUANTITATIVA EM PORTUGAL E NA SUÉCIA



- Porto -
1995

Alda Maria Botelho Correia de Sousa

A VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR: UM ESTUDO DE GENÉTICA QUANTITATIVA EM PORTUGAL E NA SUÉCIA



- Porto -
1995

Alda Maria Botelho Correia de Sousa

A VARIABILIDADE FENOTÍPICA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR: UM ESTUDO DE GENÉTICA QUANTITATIVA EM PORTUGAL E NA SUÉCIA

Dissertação de candidatura ao grau de Doutora em Ciências Biomédicas, Especialidade de Genética, apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto.

Orientador: Professor Doutor Luís Augusto de Freitas Sieuve Monteiro, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto.

Co-orientadora: Professora Doutora Corália Maria Fortuna de Brito Vicente, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto.

- Porto -
1995

Preceitos Legais

De acordo com o disposto no nº 2 do Artº 8º do Dec.-Lei nº 388/70, foram utilizados, em parte, resultados contidos nos seguintes trabalhos, pessoais ou de colaboração, já publicados ou em vias de publicação:

Teixeira F, Lobato L, SOUSA A, Sequeiros J: *Genetic study of late-onset in hereditary amyloid neuropathy - type I (Portuguese, Andrade).* Abstracts of the Vth Symposium on Amyloidosis, p.69, Hakone, Japan, **1987**.

Sequeiros J, SOUSA A: *Is the homozygous state for hereditary amyloid neuropathy - type I (Portuguese, Andrade) incompatible with early intrauterine life?* Abstracts of the Vth Symposium on Amyloidosis, p.93, Hakone, Japan, **1987**.

Sequeiros J, SOUSA A: *Is the Homozygous State for Hereditary Amyloid Neuropathy (HAN) - Type I (Portuguese, Andrade) Incompatible With Early Intrauterine Life?* In: Isobe T, Araki S, Uchino F, Kito S, Tsubura E (eds): **"Amyloid and Amyloidosis"**, pp. 413-418, Plenum Press, New York, **1988**.

Lobato L, Teixeira F, SOUSA A, Sequeiros J: *Genetic Study of Late-Onset in Hereditary Amyloid Neuropathy (HAN) - Type I (Portuguese, Andrade).* In: Isobe T, Araki S, Uchino F, Kito S, Tsubura E (eds): **"Amyloid and Amyloidosis"**, pp. 441-446, Plenum Press, New York, **1988**.

SOUSA A, Lobato L, Sequeiros J: *Age of onset in hereditary amyloid neuropathy (HAN) - type I (Portuguese, Andrade): familial variation, sex influence, late onset and genetic models.* Abstracts of the Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, **American Journal of Human Genetics** 43 (3): A222, **1988**.

SOUSA A, Lobato L, Sequeiros J: *Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (português, Andrade) - Variação familiar e modelos genéticos.* **Boletim do Hospital** (HGSA, Porto), 3 (9): 63-69, **1988**.

SOUSA A, Coelho T, Morgado R, Coutinho P: *Statistical Analysis of Factors which May Influence the Duration of FAP - I.* In: Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other TTR Related Disorders, **Arquivos de Medicina** 3 (special issue): 351-355, **1990**.

SOUSA A, Coelho T, Lobato L, Sequeiros J: *Anticipation of age-of-onset in FAP - type I.* Abstracts of the VIth International Symposium on Amyloidosis, Oslo, **1990**.

Coelho T, SOUSA A, Sequeiros J: *Parental transmission and age of onset in FAP-I.* Abstracts of the VIth International Symposium on Amyloidosis, Oslo, **1990**.

SOUSA A, Coelho T, Sequeiros J: *Sex differences and age-dependent penetrance in FAP-type I.* Abstracts of the VIth International Symposium on Amyloidosis, Oslo, **1990**

SOUSA A, Coelho T, Lobato L, Sequeiros J: *Anticipation of Age-of-onset in Familial Amyloidotic Polyneuropathy (Portuguese Type).* In: Natvig J et al. (eds): **"Amyloid and Amyloidosis 1990"**, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, Netherlands, **1991**, pp. 694-697.

SOUSA A, Coelho T, Sequeiros J: *Parental Transmission and Age-of-onset in Familial Amyloidotic Polyneuropathy (Portuguese Type).* In: Natvig J et al. (eds): **"Amyloid and Amyloidosis 1990"**, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, Netherlands, **1991**, pp. 691-693.

Sequeiros J, SOUSA A, Coelho T: *Sex Differences and Age-Dependent Penetrance in FAP - Type I.* In: Natvig J et al. (eds): **"Amyloid and Amyloidosis 1990"**, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, Netherlands, **1991**, pp. 687-690.

Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, SOUSA A: *Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study.* **Clinical Genetics** 40: 452-460, **1991**.

SOUSA A, Coelho T, Lobato L, Sequeiros J: *Parental transmission and anticipation of age-of-onset in FAP-I.* Abstracts of the 8th International Congress of Human Genetics, **American Journal of Human Genetics** 49 (4): 483, **1991**.

SOUSA A, Coelho T: *Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy in Póvoa do Varzim / Vila do Conde (north of Portugal): variation in age of onset, prevalence rates and gene frequency.* Abstracts of the Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, **American Journal of Human Genetics** 51 (4): A343, **1992**.

Coelho T, Lourenço E, Ramalheira J, SOUSA A: *A review of 107 cases in the Portuguese FAP population in whom both parents were disease-free.* Abstracts of the 2nd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders, Skellefteå, Sweden. **The Journal of Rheumathology** 20: 178, **1993**.

SOUSA A, Coelho T: *A prevalence study of FAP in two areas of Portugal: Póvoa / Vila do Conde and Unhais da Serra / Seia / Covilhã.* Abstracts of the 2nd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders, Skellefteå, Sweden. **The Journal of Rheumathology** 20: 190, **1993**.

SOUSA A, Drugge U, Andersson R, Holmgren G, Sandgren O. *A prevalence study of FAP in northern Sweden.* Abstracts of the 2nd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders, Skellefteå, Sweden. **The Journal of Rheumathology** 20: 190, **1993**.

Drugge U, SOUSA A, Andersson R, Holmgren G, Sandgren O: *Some patterns of age-of-onset variation in Swedish FAP families.* Abstracts of the 2nd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin Related Disorders, Skellefteå, Sweden. **The Journal of Rheumathology** 20: 190, **1993**.

Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, SOUSA A: *Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: a pedigree analysis*, **Journal of Medical Genetics** 30: 388-392, **1993**.

SOUSA A, Andersson R, Drugge U, Holmgren G, Sandgren O: *Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: geographical distribution, age of onset and prevalence*, **Human Heredity** 43: 288-294, **1993**.

Coelho T, SOUSA A, Lourenço E, Ramalheira J: *A study of 159 Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) whose parents were both unaffected*, **Journal of Medical Genetics** 31: 293-299, **1994**.

Lobato L, SOUSA A, Jorge R, Pinho e Costa P, Azevedo J, Xavier E: *Nephropathy in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) TTR^{Met30} - epidemiological and clinical study.* Abstracts of the 8th Congress of the Portuguese Society of Nephrology and the 1st International Meeting of Nephrology of the Portuguese Language Countries, Porto, 6-10 Junho 1993, **Kidney International** 45: 287, **1994**.

SOUSA A: A polineuropatia amiloidótica familiar - aspectos epidemiológicos e genéticos. Livro de Resumos do XIº Encontro Nacional de Clínicos Gerais, Póvoa do Varzim, **1994**.

SOUSA A, Barros J, Coelho T: *Fertility of patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) - type I in Póvoa do Varzim / Vila do Conde (north of Portugal).* Abstracts of the Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, **American Journal of Human Genetics** 55 (3 Suppl.): A339, **1994**.

Barros J, Coelho T, SOUSA A: *A prevalência da polineuropatia amiloidótica familiar nos concelhos da Póvoa do Varzim e Vila do Conde: relação com a idade de início e a fertilidade.* Resumos da Reunião de Outono da Sociedade Portuguesa de Neurologia, p.38, Porto, **1994**

SOUSA A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J: *Genetic epidemiolgy of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) - type I in Póvoa de Varzim / Vila do Conde (north of Portugal).* **American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)**, em publicação, **1995**.

Conforme o Dec-Lei acima citado declaro terem sido de minha inteira responsabilidade a planificação e execução dos trabalhos, desde a recolha de dados, a sua análise, interpretação e discussão na presente dissertação e em todas as publicações de que sou primeira autora. As colaborações recebidas para qualquer daqueles aspectos, sempre que for o caso, são devidamente citadas ao longo do texto ou nos Agradecimentos.

Aos meus Pais

Ao Jorge

Agradecimentos

Ao meu supervisor, Professor Sieuve Monteiro tanto pelas sugestões recebidas ao longo deste trabalho como, sobretudo, pela confiança que depositou em mim.

À Corália Vicente, co-orientadora desta tese, por tudo isso e por 30 anos de cumplicidades.

Ao Dr. Corino Andrade, cujo exemplo e cuja curiosidade inquietante foram sempre um desafio.

Ao Professor Nuno Grande, que me incentivou e apoiou em momentos difíceis.

Ao Professor Pedro Pinho e Costa, que me autorizou a usar o arquivo do CEP, pelo seu apoio incondicional ao meu trabalho, mesmo quando algumas das minhas ideias lhe pareciam um pouco esdrúxulas.

À Paula Coutinho, que me acolheu com simpatia no grupo dos colaboradores do CEP.

Ao Dr. Gösta Holmgren, por me ter dado a oportunidade de fazer parte desta investigação na Suécia, e pela sua gentileza e amizade.

Ao Professor Jan Ekstedt que me permitiu usar as instalações do Serviço de Neurologia do Hospital Universitário de Umeå, de que era director.

Ao Prof. Egil Johansson e aos restantes investigadores dos Arquivos Históricos pelo apoio e o bom humor, ingrediente indispensável para se aguentar o inverno no norte da Suécia.

Ao Dr. Rune Andersson, que me cedeu todo o material clínico e genealógico por ele recolhido entre 1965 e 1974 e com quem tive valiosas discussões.

Aos médicos que, na Suécia, me ajudaram na recolha de dados clínicos: Dr. Kenneth Lång, do Hospital de Piteå, o Dr. Bela Almay, do Hospital de Umeå, mas sobretudo, o Dr. Lars Wikström do Serviço de Medicina Interna do Hospital de Skellefteå, que foi incansável nessa tarefa.

Aos doentes suecos que responderam ao questionário por mim elaborado, e à sua associação FAMY.

Ao Lars Lindegren, que até à morte lutou contra esta terrível doença da melhor maneira possível, isto é, organizando a solidariedade e a luta pelos direitos dos doentes.

À Margit Lundmark, que me desenhou pedigrees e mapas da Suécia.

Ao Jaime Baptista, precocemente desaparecido, que me ajudou na transferência dos dados do CRIN para o CEP.

À Maria Ramos e à Sílvia Martins, pelo apoio constante na recolha de dados ao longo de vários anos.

Ao José Barros, sem cuja ajuda e entusiasmo eu não teria já tido coragem para recolher os dados para o estudo de fertilidade, e à D. Glória Carrão (assistente social do CEAP da Póvoa) e à Isabel Friães, que ajudaram a completar esses dados.

À D. Maria do Carmo Coutinho, que me conseguiu obter resposta mesmo aos pedidos mais difíceis de bibliografia.

Ao Sr. Anselmo Carraça, que me desenhou mapas, pedigrees e tabelas, sempre de bom humor. Ao Dr. Abel Roldão, pelos seus slides.

À D. Laura Martinho, que ao longo dos anos subiu e desceu escadas centenas de vezes para fazer fotocópias.

À Carolina, à Paula, à Madalena, à Teresa e ao Jorge, que, por amizade, leram e releram este texto, corrigindo erros e sugerindo-me algumas emendas valiosas.

Ao Pedro Barbosa, que, com uma infinita paciência, compôs as tabelas, os pedigrees e o texto na fase final.

À D. Otélia Varela e ao sr. José Magalhães da Reprografia, que diligentemente fizeram as fotocópias e encadernação da tese.

A todos os meus colegas de trabalho, no ICBAS e no CEP, de quem tive apoio e incentivo e que por vezes me substituiram nas funções docentes em momentos de grande aperto (um agradecimento especial à Denisa).

À minha família, aos meus amigos e aos meus camaradas que, para além das minhas muitas ausências, tiveram que suportar alguns dos meus momentos de tensão e de mau-humor.

Aos meus Pais, por tudo.

A Fundação Gomes Teixeira e o INIC concederam-me subsídios para as minhas várias estadias na Suécia. A Comissão de Fomento em Investigação em Cuidados de Saúde e a Fundação Luso-Americana para o Desenvolvimento subsidiaram projectos de investigação de que fiz parte e que estiveram na base de alguns dos resultados aqui incluídos.

Ao longo destes anos tive o privilégio de trabalhar de perto com o Jorge Sequeiros, a Luísa Lobato, a Teresa Coelho, o Ulf Drugge, o Ola Sandgren e, mais recentemente, com o José Barros. É difícil agradecer a pessoas que são parte integrante de um percurso e que comigo partilharam hipóteses, sugestões, certezas, dúvidas, entusiasmos e desilusões, risos também, e muitas, muitas horas de trabalho.

Uma sugestão da Paula Coutinho para que a Teresa e eu trabalhassemos juntas nos dados da duração da PAF transformou-se numa colaboração que dura já há sete anos. Espero que esta colaboração se prolongue muito para além da tese da Teresa.

Um dia, há cerca de oito anos, o Jorge entrou no meu gabinete para discutir uma teoria sobre os homozigotos na PAF. Sem esse seu desafio nada disto teria acontecido...

ÍNDICE

RESUMOS 1

1. UMA VARIABILIDADE FENOTÍPICA MAIOR DO QUE A INICIALMENTE SUPOSTA

A DESCOBERTA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR (PAF OU PARAMILOIDOSE) 5
A AUSÊNCIA DE ESTUDOS QUANTITATIVOS NA PAF 6
A DESCOBERTA DA ETIOLOGIA E DO MODO DE TRANSMISSÃO 8
... E OS DESVIOS EM RELAÇÃO À HEREDITARIEDADE DOMINANTE 11
UMA VARIABILIDADE MAIOR DO QUE A INICIALMENTE PENSADA
a) O alargamento do espectro das idades de início 13
b) Os casos isolados e a hipótese de novos mutantes 14
c) A genetic fitness e a selecção: uma vantagem selectiva para os heterozigotos? 15
d) As referências à antecipação na PAF 16
e) Uma origem mutacional comum a todos os casos portugueses? 17
f) As descrições da doença noutros países 18
g) O reconhecimento lento e gradual dos casos de início tardio em Portugal 19
h) As questões abertas pela descoberta do marcador bioquímico 20
i) A heterogeneidade genética da TTR 22
j) Haverá uma origem comum aos diversos focos de PAF-Met30? 23
k) Os homozigotos na PAF 24
A IMPORTÂNCIA DA COMPARAÇÃO DO FOCO PORTUGUÊS E DO FOCO SUECO PARA O ESTUDO DA VARIABILIDADE FENOTÍPICA 25
OBJECTIVOS DESTE ESTUDO 25
BIBLIOGRAFIA 28

2. A RECOLHA DE DADOS

2.1 INTRODUÇÃO 37
2.2 A RECOLHA DE DADOS EM PORTUGAL
2.2.1 Métodos de detecção de doentes (o arquivo do Centro de Estudos de Paramiloidose) 38
2.2.2 Critérios de diagnóstico e de inclusão 40
2.2.3 Definição do início da doença 40
2.2.4 Critérios de exclusão 41
2.2.5 A recolha de dados adicionais para este estudo 41
2.3 A RECOLHA DE DADOS NA SUÉCIA
2.3.1 Métodos de detecção de sujeitos e de confirmação do diagnóstico 43
2.3.2 Critérios de diagnóstico e inclusão 45
2.3.3 Sujeitos excluídos deste estudo 46
2.3.4 O questionário familiar 47
2.3.5 A determinação da data de morte (certidões de óbito e registo das Finanças) 48
2.3.6 Os arquivos históricos e a genealogia 48
2.4 ALGUNS COMENTÁRIOS SOBRE OS CRITÉRIOS DE INCLUSÃO EM PORTUGAL E NA SUÉCIA 50
2.5 ANÁLISE DE DADOS E GRÁFICOS 52
2.6 BIBLIOGRAFIA 53

3. EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA PAF EM PORTUGAL: A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, A IDADE DE INÍCIO E A PREVALÊNCIA, COM INCIDÊNCIA PARTICULAR NA ÁREA DA PÓVOA DE VARZIM/VILA DO CONDE

3.1 INTRODUÇÃO 55
3.2 SUJEITOS 58
3.3 MÉTODOS
3.3.1 Definição da origem da família 59
3.3.2 Métodos estatísticos 59
3.3.3 Dados demográficos 59
3.3.4 Estimativas das taxas de prevalência 60
3.3.5 Estimativa da frequência de portadores do gene 61
3.4 RESULTADOS GERAIS
3.4.1 Anos de nascimento 61
3.4.2 A proporção de homens e mulheres 62
3.4.3 A idade de início 62
3.4.4 A origem e a residência 63
3.5 RESULTADOS DO ESTUDO ESPECÍFICO SOBRE A REGIÃO DA PÓVOA/VILA DO CONDE 65
3.5.1 Descrição da amostra 65
3.5.2 Anos de nascimento 65
3.5.3 A origem e a residência 66
3.5.4 As famílias e as suas ligações 66
3.5.5 A idade de início, idade à data do diagnóstico e intervalo entre início e diagnóstico 67
3.5.6 A idade de morte, a duração total e a sobrevida 69
3.5.7 A amostra prevalente de 1991 70
3.5.8 As taxas de prevalência e a frequência de heterozigotos 71
3.5.9 O que mudou entre 1981 e 1991 72
3.6 DISCUSSÃO
3.6.1 A distribuição geográfica das famílias e a origem da mutação 74
3.6.2 A PAF é um problema de saúde pública na área da Póvoa/Vila do Conde 76
3.6.3 Uma doença em expansão? 77
3.6.4 A homogeneidade da amostra da Póvoa/Vila do Conde 78
3.7 BIBLIOGRAFIA 80

4. EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA PAF NA SUÉCIA: A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, A IDADE DE INÍCIO E A PREVALÊNCIA, COM INCIDÊNCIA PARTICULAR NAS ÁREAS DE SKELLEFTEÅ E PITEÅ

4.1 INTRODUÇÃO 83
4.2 SUJEITOS 87
4.3 MÉTODOS
4.3.1 Definições 88
4.4 RESULTADOS
4.4.1 Descrição da amostra 90
4.4.2 Anos de nascimento e de diagnóstico 90
4.4.3 A idade de início, a idade à data do diagnóstico e a demora no diagnóstico 92
4.4.4 Idade de morte e duração 92
4.4.5 As famílias 93
4.4.6 A distribuição geográfica dos doentes e das famílias 96
4.4.7 A distribuição da idade de início em diferentes zonas geográficas 99
4.4.8 A amostra prevalente de 1985 101
4.4.9 As taxas de prevalência ao longo dos anos 103
4.4.10 As estimativas da frequência de portadores do gene 104

4.5 Discussão
4.5.1 Uma distribuição geográfica diferente da descrita por Andersson 105
4.5.2 Duas concentrações de doentes: Skellefteå e Piteå 105
4.5.3 Um gene de elevada frequência e de baixa penetrância 106
4.5.4 A investigação genealógica e a origem da mutação 108
4.6 Bibliografia 110

5. A VARIABILIDADE DA IDADE DE INÍCIO DA PAF EM PORTUGAL E NA SUÉCIA

5.1. Introdução 113
5.2. Sujeitos e métodos
5.2.1. Sujeitos 117
5.2.2. Estudo da distribuição da idade de início 117
5.2.3. Caso intermédio, caso tardio e família tardia 117
5.2.4. Caso isolado e portador assintomático de idade avançada 118
5.2.5. Critérios de identificação do progenitor transmissor 118
5.2.6. Correlações familiares 120
5.3. Resultados
5.3.1. Estudo da idade de início nos doentes portugueses e nos doentes suecos 121
5.3.2. Diferenças de expressividade e penetrância, e algumas particularidades da idade de início em Portugal e na Suécia 128
5.3.3. Sexo do progenitor transmissor 146
5.3.4. Variação e correlações intrafamiliares da idade de início 153
5.4. Discussão
5.4.1. O paradigma inicial e a variabilidade hoje conhecida 156
5.4.2. A distribuição da idade de início 156
5.4.3. A variabilidade da penetrância e as particularidades da idade de início 158
5.4.4. A influência do progenitor transmissor 160
5.4.5. A variação e as correlações familiares 162
5.4.6. Um modelo genético para a variação da idade de início 162
5.5. Bibliografia 166

6. A VARIABILIDADE ENTRE GERAÇÕES: A ANTECIPAÇÃO DA IDADE DE INÍCIO

6.1. Introdução 173
6.1.1. Os estudos anteriores sobre a antecipação na PAF 177
6.1.2. As nossas anteriores tentativas de estudar a antecipação na PAF 178
6.1.3. Objectivos deste estudo 178
6.2. Sujeitos e métodos
6.2.1. Análise de pedigrees 179
6.2.2. Análise quantitativa 180
6.2.3. Definições 181
6.2.4. Métodos estatísticos 182
6.3. Resultados da antecipação nos doentes portugueses
6.3.1. Análise de pedigrees 183
6.3.2. Análise quantitativa 189
6.4. Resultados da antecipação nos doentes suecos
6.4.1. Análise de pedigrees 199
6.4.2. Análise quantitativa 200
6.5. Discussão
6.5.1. A antecipação na PAF não é devida a enviesamentos 201
6.5.2. Os pares complementares 202
6.5.3. A regressão para a média e a antecipação negativa 203
6.5.4. Antecipação, fertilidade e extinção do gene 204
6.5.5. Que explicações para a antecipação na PAF? 206
6.6. Bibliografia 209

7. A FERTILIDADE E A *FITNESS:* UMA VANTAGEM SELECTIVA PARA OS HETEROZIGOTOS?

7.1 INTRODUÇÃO 213
7.2 SUJEITOS E MÉTODOS 214
7.2.1 Comparação dos parâmetros de fertilidade dos homens e das mulheres doentes com PAF 215
7.2.2 Comparação com um grupo controlo - os dados do censo de 1991 216
7.3 RESULTADOS
7.3.1 Uso da amostra dos doentes de ambos os sexos cujo período reprodutor estava já completo 217
7.3.2 Uso da amostra de mulheres vivas em 1991 e comparação da sua fertilidade com a da população geral 222
7.4 DISCUSSÃO
7.4.1 A selecção de sujeitos 225
7.4.2 As diferenças de fertilidade entre os homens e as mulheres doentes 226
7.4.3 A fertilidade, a idade de início e a expansão da doença 227
7.4.4 As comparações com grupos de controlo 228
7.4.5 Metodologias a usar em estudos futuros 228
7.5 BIBLIOGRAFIA 231

CONCLUSÕES 233

Resumo

A polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) - tipo I foi inicialmente definida como uma doença com início habitual entre os 25 e os 35 anos. Contudo, veio-se a descobrir uma variabilidade da idade de início maior que a suposta, com distribuições distintas em diferentes populações. Este estudo procurou sistematizar a variabilidade desta doença autossómica dominante e discutir possíveis modelos genéticos, comparando dados de Portugal e da Suécia. Foram incluídos os 1224 doentes diagnosticados no Porto, no Centro de Estudos de Paramiloidose (entre 1939 e 1992) e os 239 doentes diagnosticados em vários hospitais do norte da Suécia (de 1965 a 1990).

Do estudo epidemiológico em Portugal, concluiu-se que a Póvoa do Varzim/Vila do Conde é a principal região de origem (cerca de 1/3 do total de doentes). A alta prevalência da doença (151×10^{-5}) e a elevada frequência de portadores do gene mutante (186×10^{-5}) fazem com que, naqueles concelhos, a PAF represente um problema de saúde pública. Na Suécia, a PAF distribui-se sobretudo nos dois distritos mais a norte, Västerbotten e Norrbotten: uma concentração de doentes à volta da cidade de Skellefteå e outra, só agora descoberta, em volta da cidade de Piteå. Nessas regiões foram também encontrados valores muito elevados para a prevalência da doença (91×10^{-5} e 63×10^{-5}) e para a frequência de portadores do gene (204×10^{-5} e 284×10^{-5} , respectivamente).

A média da idade de início em Portugal era 33.5 anos (amplitude 17-78 anos) e na Suécia 56.7 anos (amplitude 26-84 anos) e as suas distribuições parecem imagens em espelho: enquanto em Portugal se tem vindo a detectar um grupo de doentes mais tardios, agregando-se em famílias e por concelhos distintos dos de maior prevalência, na Suécia existe um pequeno grupo de doentes com início precoce. Em ambos os focos havia mais homens que mulheres doentes; nos doentes portugueses as mulheres tinham um início mais tardio (35.6) que os homens (31.9 anos), enquanto na Suécia não havia diferenças significativas. Em ambos os focos, a doença era mais precoce quando herdada da mãe; na Suécia os doentes com mãe afectada têm início 25 anos mais cedo, em média, que os que tiveram uma mãe portadora mas assintomática. Nos doentes portugueses, os mais precoces são os filhos de mães afectadas e as mais tardias as filhas de pais afectados; o mesmo se verificou para a antecipação. Estes resultados podem sugerir uma hereditariedade multifactorial de modificadores genéticos com um limiar diferente para cada sexo.

Tanto em Portugal como na Suécia, a correlação da idade de início entre irmãos é mais elevada que a correlação entre pais e filhos (por sua vez não significativamente diferente de 0.5), o que reforça a hipótese de que modificadores genéticos possam modular a idade de início na PAF. Os seis homozigotos anteriormente encontrados na Suécia, com fenótipo idêntico ao dos heterozigotos, excluem também o efeito dos isoalelos. O facto de nunca se ter encontrado um doente tardio com um progenitor clássico sugere um locus modificador ligado, próximo do locus da TTR. Outra hipótese discutida é a de um modificador do tipo das mutações dinâmicas.

Demonstrou-se ainda que a antecipação não era o produto de enviesamentos, nem resultava de um efeito de regressão para a média: os pares complementares de Penrose nunca foram encontrados. Observou-se que há portadores da mutação que nunca chegam a manifestar sintomas, mesmo vivendo até idades avançadas, e que, em algumas famílias, o gene pode ter atravessado várias gerações sem se manifestar. Um estudo sobre a fertilidade dos doentes na área da Póvoa do Varzim/Vila do Conde concluiu ainda que a doença se encontra em expansão naquela região: as mulheres doentes têm mais filhos que as mulheres da população geral, levantando a questão de um valor adaptativo elevado apesar da gravidade habitual da doença.

Résumé

La polyneuropathie amiloïde familiale (PAF) - type I, une maladie autosomique dominante, fut d'abord décrite ayant un début surtout entre 25 et 35 ans. Pourtant, on a trouvé que l'âge de début pouvait être plus variable que ce qu'on pensait il y a 50 ans, ayant même des distributions différentes dans des populations distinctes. On a éssayé d'étudier systèmatiquement cette variation et de discuter des modèles génétiques possibles, en comparant des données du Portugal et de la Suède: 1224 cas diagnostiqués à Porto, au Centro de Estudos de Paramiloidose (1939-1992) et 239 cas diagnostiqués dans plusieurs hôpitaux du nord de la Suède

De l'étude épidémiologique au Portugal on a pu conclure qu'environ un tiers du total des malades provenait de Póvoa de Varzim/Vila do Conde. La grande prévalence de la maladie (151×10^{-5}) et la fréquence élevée de porteurs du gène mutant (186×10^{-5}) font de la PAF un vrai problème de santé publique dans la région. En Suède, la PAF se distribue surtout dans les deux départements plus au nord, Västerbotten et Norrbotten: une concentration autour de la ville de Skellefteå et une deuxième, plus récemment découverte, autour de Piteå. Dans ces deux régions-ci, on a aussi trouvé des chiffres très élevés soit pour la prévalence (91×10^{-5} et 63×10^{-5}), soit pour la fréquence de porteurs (204×10^{-5} et 284×10^{-5}, respectivement).

L'âge moyen de début était de 33.5 années au Portugal (écart 17-78 ans) et de 56.7 en Suède (26-84 ans) et ses distributions se ressemblent comme deux images en miroir: au Portugal, plusieurs cas au début plus tardif on été dépistés, ils s'agrègent en familles et par municipalités distinctes de celles avec une plus grande prévalence; en Suède il existe aussi un petit nombre de cas au début précoce. Dans tous les deux pays le nombre d'hommes atteints surpasse celui de femmes; parmi les malades portugais les femmes avaient un début plus tardif (35.6 ans) que celui des hommes (31.9 ans), tandis qu'en Suède il n'y avait pas de différences significatives. Dans les deux pays, la maladie se manifestait plus tôt quand elle était transmise par la mère; en Suède, les malades dont la mère elle aussi avait la maladie étaient atteints, en moyenne, 25 ans plus tôt que ceux dont la mère était le transmetteur, quoique asymptomatique. Parmi les malades portugais, les plus précoces sont les fils de mères atteintes et les plus tardives les filles de pères atteints; il en était de même pour l'anticipation. Ces résultats suggèrent peut-être une hérédité multifactorielle de modificateurs génétiques, avec un seuil différent pour chaque sexe.

Au Portugal, aussi bien qu'en Suède, la corrélation de l'âge de début entre frères est plus élevée que celle entre parents-enfants (laquelle, à son tour, n'est pas différente de 0.5), ce qui renforce l'hypothèse que des modificateurs génétiques puissent modeler l'âge de début de la PAF. Les six cas d'homozygotes auparavant trouvés en Suède, ayant le même phénotype que les hétérozygotes, excluent l'effet des isoallèles. Le fait qu'on n'ait jamais trouvé un malade au début tardif ayant pour transmetteur un cas au début précoce suggère plutôt un locus modificateur lié et très proche du locus de la TTR. On discute aussi la possibilité d'un modificateur du type des mutations dynamiques.

On a aussi démonstré que l'anticipation n'était pas l'effect de biais ni le résultat de la régression vers la moyenne: les pairs complémentaires de Penrose n'ont jamais été trouvés. On a aussi observé qu'il y a des porteurs du gène mutant qui ne manifestent jamais des symptômes, même s'ils doivent vivre jusque à très tard; dans quelques généalogies, le gène a peut-être pu traverser plusieurs générations sans se manifester. Une étude sur la fértilité des malades des municipalités de Póvoa do Varzim/Vila do Conde a démonstré que la maladie se trouve en expansion dans cette région-là: les femmes malades ont plus d'enfants que les femmes de la population générale, soulevant la question d'une *genetic fitness* elévée malgré le cours habituellement grave de la maladie.

Abstract

Familial amyloid polyneuropathy (FAP), type I, an autosomal dominant disease, was originally described as a disease with onset usually between age 25 and 35; however, a variability wider than previously supposed has been uncovered, with distinct distributions in different populations. We have now tried to study some patterns of this variation, comparing data on age at onset in Portugal and Sweden, and to discuss different genetic models. We have included in this study all 1224 patients diagnosed in Porto, at the Centro de Estudos da Paramiloidose (1939-1992) and 239 patients diagnosed at several hospitals in northern Sweden (1965-1990).

The epidemiological study in Portugal has shown that Póvoa do Varzim is the main district of origin (about one-third of all patients). The high prevalence of the disease (151 x 10^{-5}) and the large frequency of mutant gene carriers (186 x 10^{-5}) in that area imply that FAP is a local public health problem. In Sweden, FAP is distributed mostly in the two most northern districts, Västerbotten and Norrbotten: a concentration around the city of Skelefteå and another one, only recently recognized, around Piteå. In these two regions, very high values were also found for the prevalence rate (91 x 10^{-5} and 63 x 10^{-5}) and for the frequency of gene carriers (204 x 10^{-5} and 284 x 10^{-5}, respectively).

Mean age at onset was 33.5, in Portugal (range 17-78 yrs) and 56.7 years in Sweden (range 26-84 yrs),, with both distributions appearing as mirror images of each other: a group of later-onset patients (up to age 78) has been ascertained, aggregating in some families and distributed by some districts other than those with higher prevalence, whereas in Sweden there is also a small group of earlier-onset patients. In both countries, there are more affected men than women. Women tend also to have onset (35.6) later than men (31.9 years), in the Portuguese, while there are no significant differences in the Swedish. The disease has always an earlier onset when inherited from mother- carriers; in Sweden, however, when the mother is affected onset is 25 years earlier (on average) than when the mother is an asymptomatic carrier. Among the Portuguese patients, those with the earliest onset are the sons of affected mothers, while those with the latest onset are the daughters of affected fathers; a similar result is seen when measuring anticipation. This may suggest a multifactorial inheritance of genetic modifiers with different thresholds for each sex.

In Portugal as in Sweden, the correlation of age at onset among sibs is higher than that between affected parents and their offspring (which, in turn, is not significantly different from 0.5). Also, six Swedish homozygotes previously found have the same phenotype as the heterozygotes. These facts together suggest that genetic modifiers determine age at onset, but exclude the effect of isoalleles. The fact that a late-onset patient was never found descending from an early-onset parent, suggest a modifier locus closely linked to the TTR gene, or one of the dynamic mutations type.

We have also shown that anticipation of age at onset was not the product of biases, nor did it result from an effect of regression to the mean: Penrose's complementary pairs were never found. Furthermore, some gene carriers do not manifest the disease even at high age, and in some families the mutant gene may have crossed several generations without expressing itself. Also, the study of fertility in the region of Póvoa do Varzim / Vila do Conde concluded that FAP-I is expanding in that area: women who are affected have more children than those from the general population of the same area. This means that, in spite of the usual severity of the disease, we must consider the hypothesis of a high genetic fitness for the FAP-I gene.

1. UMA VARIABILIDADE FENOTÍPICA MAIOR DO QUE A INICIALMENTE SUPOSTA

A DESCOBERTA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR (PAF OU PARAMILOIDOSE)

Decorridos quase treze anos sobre a observação da primeira doente, Corino de Andrade publicou no *Brain* a descrição de uma entidade clínica distinta, "uma forma peculiar de neuropatia", com início insidioso na 3ª ou 4ª década, fundamentalmente entre os 25 e os 35 anos, a que se segue um curso inexorável para a morte num período de 7 a 10 anos[1]. Depois de uma aturada e exaustiva investigação, Andrade concluiu que nos 64 doentes por ele observados havia um quadro clínico constante e repetitivo e, ao mesmo tempo, distinto de outras afecções até então conhecidas: uma neuropatia sensitivo-motora associada a uma multiplicidade de sintomas de vários aparelhos (impotência, diarreia, hipotensão ortostática e perturbações do ritmo cardíaco, entre outros) que o autor atribui a uma neuropatia autonómica e não à doença primária dos diversos órgãos. Os aspectos de natureza anatomopatológica desta nova doença foram também descritos: trata-se de uma amiloidose primária, atípica e generalizada, com

incidência especial sobre os nervos periféricos. O seu carácter familiar abriu uma nova era na classificação das amiloidoses - a das amiloidoses de natureza hereditária.

Após a descrição inicial de Andrade, a caracterização de outras formas de apresentação clínica[2,3] conduziu a uma primeira classificação das amiloidoses hereditárias em PAF-tipo I (Andrade ou tipo Português), II (Rukavina ou tipo Indiana), III (Van Allen ou tipo Iowa)[4,5], a que mais tarde se veio juntar a PAF tipo-IV (Meretoja ou tipo Finlandês), que se expressa não como uma neuropatia periférica mas como uma neuropatia craniana[6]. Contudo, estes tipos distintos de PAF têm importâncias diferentes. Enquanto que à PAF-tipo II ou III corresponde, à escala mundial, um número relativamente reduzido de famílias, e a PAF-tipo IV se encontra fundamentalmente localizada numa região da Finlândia, à PAF-tipo I (o fenótipo inicialmente descrito) foram desde cedo associadas descrições de um grande número de doentes e famílias que se agregavam em focos geográficos específicos.

A AUSÊNCIA DE ESTUDOS QUANTITATIVOS NA PAF

A PAF-tipo I é por isso uma das doenças neurológicas de hereditariedade dominante com maior expressão a nível mundial, com grandes concentrações de doentes em algumas regiões de vários países (Portugal, Japão, Suécia e na ilha de Maiorca, por ordem decrescente de doentes e famílias). Ao longo dos anos, foi sendo recolhido um vasto e riquíssimo material de estudo sobre os indivíduos e as famílias afectadas. Não deixa pois de ser surpreendente que esses dados não tivessem sido ainda objecto de uma análise quantitativa (epidemiológica, genética, geográfica ou demográfica) aprofundada. Em relação a outras doenças neurológicas dominantes como a doença de Huntington, a distrofia miotónica, a neurofibromatose, a doença de Charcot-Marie-Tooth ou, mais recentemente, a doença de Machado-Joseph e a doença de Alzheimer, não só desde muito cedo foi reconhecida a sua grande variabilidade fenotípica como, na ausência de um marcador genético ou bioquímico para a doença, foram aplicadas múltiplas abordagens, muitas vezes interdisciplinares (epidemiologia genética, sócio-demografia, genética quantitativa) no sentido de compreender e encontrar explicações para essa variabilidade.

Na verdade, em nenhum dos três maiores focos da PAF surgiram até agora estudos quantitativos importantes sobre a genética ou a epidemiologia da PAF. Uma possível explicação para este facto reside provavelmente na própria história e no percurso da investigação da PAF.

Talvez por ter sido inicialmente descrita e estudada na região da Póvoa do Varzim (como veremos adiante), a PAF foi durante muito tempo considerada uma doença monomórfica, exibindo pouca variabilidade fenotípica. A dificuldade de reconhecimento dessa variabilidade foi, na minha opinião, um obstáculo adicional à necessidade de estudos quantitativos desta doença.

A descoberta do defeito bioquímico (precoce na história do conhecimento da doença), ao confirmar um único gene mutante presente nos casos portugueses, acentuou um conceito determinístico do fenótipo e da sua variação (doença monogénica).

Não pretendi, com esta tese, tentar resolver todas as interrogações que, ao longo dos anos, se foram pondo sobre a existência e as razões da variabilidade. Após vários anos de trabalho, a lista das perguntas que continuam sem resposta terá, porventura, até aumentado. A diferença estará talvez no facto de elas resultarem agora da reformulação de algumas das hipóteses iniciais que entretanto passaram pelo crivo de uma análise global qualitativa e quantitativa. Uma vantagem suplementar residirá por certo, também, no facto dessa análise ter incidido sobre os dois grandes focos europeus da PAF - Portugal e Suécia. E, se bem que tivesse tentado evitar qualquer eclectismo, o certo é que neste trabalho foram usadas metodologias e abordagens de várias disciplinas ou mesmo interdisciplinares. A análise dos dados permitiu também, naturalmente, equacionar novos problemas.

Procurarei, então, nesta introdução, fazer um resumo das reflexões e das questões levantadas ao longo dos anos pelos investigadores da PAF, indicando as que me pareciam continuar sem resposta à data do início do meu trabalho, e as razões porque achei que era importante abordá-las.

A DESCOBERTA DA ETIOLOGIA E DO MODO DE TRANSMISSÃO ...

Não será exagero dizer que, durante muito tempo, e com a excepção de um artigo do geneticista alemão P.E. Becker[7], a abordagem dos aspectos da genética da PAF se limitou quase exclusivamente à discussão da etiologia e do modo de hereditariedade.

Na sua descrição inicial[1], além de uma magistral descrição clínica da nova entidade e dos seus aspectos neuropatológicos, Andrade faz também várias outras observações de interesse para a compreensão da etiopatogenia dessa doença: 1) a distribuição geográfica dos casos observados - 54 dos 64 doentes viviam nos concelhos de Póvoa do Varzim, Vila do Conde, Esposende ou Barcelos; 2) a ocorrência da doença em indivíduos com um variado leque de profissões, desde pescadores e trabalhadores rurais, frequentes na área de maior concentração da doença, até condutores de eléctricos, médicos e mesmo um juiz, atingindo portanto indivíduos de classes sociais diferentes e com hábitos alimentares distintos; 3) a maior frequência da doença nos homens (42 casos) do que nas mulheres (22 casos); 4) o seu carácter familiar em 51 indivíduos (que se distribuíam por 12 famílias nas quais Andrade por vezes examinou doentes pertencentes a duas gerações sucessivas), enquanto nos restantes 13 indivíduos não era conhecida qualquer história de doença semelhante na família: "it is a disease that attacks many members of the same family, but the families in whom it occurs have no genetic relationship"[1].

Esta caracterização excluía em princípio a hereditariedade recessiva. Embora Andrade tivesse imediatamente detectado o carácter *familiar* desta doença, a hereditariedade dominante poderia talvez à data ter sido mais difícil de aceitar dada a existência de 13 casos isolados, sem história de doença nos progenitores ou noutros antepassados ou colaterais. Por isso Andrade refere "the regional and familiar characteristics also observed in our patients suggest the hypothesis of the convergence of genetic and environmental (particularly alimentary) factors may be the basis for the aetiology of this affection"[1], sugerindo uma investigação mais detalhada tanto dos factores genéticos como dos ambienciais.

Em 1952, numa comunicação apresentada às Jornadas Médicas Luso-Brasileiras, Furtado, Gonçalves e Carvalho[8] fazem um resumo das características da doença já descrita por Andrade e realçam à sua maneira a importância do carácter hereditário desta doença: "Nalgumas destas famílias, o carácter dominante da transmissão é tão saliente e impressionante que chega a parecer inacreditável" e "esta dominância atinge proporções geneticamente excessivas" (p.4). Por isso, os autores afirmam que "o papel da hereditariedade na génese desta doença parece, à luz dos nossos actuais conhecimentos, impossível de negar" (p.4).

Uns anos mais tarde, em 1961, Ribeiro do Rosário, Lobo Antunes e Fernando Barros[9] publicam um extenso artigo resultante da observação, em Lisboa, de 19 casos (16 familiares e 3 isolados). Curiosamente, a naturalidade dos doentes era muito diferente da dos casos descritos por Andrade, destacando-se um grupo de seis doentes provenientes de Unhais da Serra (Covilhã). Os autores discutem a etiopatogenia da doença: o facto de ela se localizar em determinados núcleos populacionais poderia ser explicado, à luz de uma transmissão hereditária, ou então em virtude de um processo infeccioso ou carencial. No entanto, apontam, correctamente, que qualquer destas duas últimas explicações se tornam pouco sustentáveis face à ocorrência de "casos nos quais o processo se desenvolve tardiamente, muitos anos após o indivíduo haver deixado a família em que nasceu" (facto esse observado em algumas das árvores familiares publicadas). É também a análise destas nove famílias (a que pertencem os 16 casos familiares) que os leva à discussão do modo de hereditariedade da doença: "Efectivamente, o estudo das árvores genealógicas dos nossos doentes, levou-nos à convicção de que a doença se transmite por intermédio de um gene dominante, não ligado ao sexo e com penetrância tardia nos estados de heterozigotia " (p.7).

Em 1960 realizou-se em Antuérpia o primeiro Simpósio Internacional sobre Amiloidoses, cujos "Proceedings" só foram publicados em 1963 num Suplemento da Acta Neuropathologica. Em relação aos aspectos genéticos desta nova doença, Andrade[10] refere que Campos Rosado, de Lisboa, estudou as 12 árvores familiares recolhidas: "On peut cependant penser que les arbres généalogiques suggèrent qu'il s'agit en effet d'une affection génétique, dont la transmission est réalisée par un allèle dominant situé dans le locus autosomique" (p. 8).

É também neste Simpósio que Andrade se refere ao nome da doença, dizendo que a denominação de Polineuropatia Amiloidótica Familiar proposta pelo neurologista brasileiro Rodrigues de Mello[11] "nous paraît exprimer l'essentiel de cette maladie" (p.9).

Por sua vez, Klein[12] é de opinião que "la transmission directe de l' affection dans deux ou trois générations successives indique un mode dominant autosomique....L'atteinte occasionnelle de père et fils exclut une herédité liée au sexe." (p. 50). Antunes et al.[13] exprimem a mesma opinião (p.13).

Nos anos seguintes à publicação de Ribeiro do Rosário et. al., Becker passa algum tempo em Portugal a trabalhar com Lobo Antunes e Ribeiro do Rosário e observa mais 10 casos. O número de doentes (29) era reduzido, mas Becker era um observador arguto e um geneticista experiente e, na minha opinião, colocou, já nessa altura, uma boa parte das questões que se podem levantar sobre a genética desta doença. E se é verdade que não era possível tirar grandes conclusões, com o escasso material de que dispunha, o mais interessante terá sido precisamente o formular dessas questões.

Em primeiro lugar, Becker et. al.[7] debruçam-se sobre a natureza e causa da doença e são de opinião que na paramiloidose não se detectam quaisquer influências especiais de natureza alimentar: a população da região da Póvoa alimenta-se fundamentalmente de peixe, enquanto que na região de Unhais da Serra são predominantes a agricultura e a criação de gado. E, no entanto, a doença aparece de um modo totalmente independente destas condições em ambas as zonas. Mas, mais importante ainda para "negar a influência de factores específicos locais": uma doente que nascera em Vieira do Minho e que tinha ido para Lisboa com três anos de idade, adoeceu aos 26 anos, bem longe do foco original da doença. A juntar a este exemplo estão os três casos de origem portuguesa descritos por Julião e Mignone no Brasil[14]: um deles estava já ali a viver há 15 anos quando apareceram os primeiros sintomas. O mesmo aconteceu com uma doente diagnosticada por Munsat e Poussaint[15] aos 59 anos de idade, que nasceu em Gouveia e emigrou para os EUA aos 18 anos. Becker lembra ainda as duas famílias brasileiras descritas por Rodrigues de Mello[11], cujos antepassados portugueses eram originários da Póvoa do Varzim.

A análise das árvores familiares apresentadas por Becker et al.[7] (algumas das quais já publicadas[9]) leva definitivamente ao estabelecimento do modo de transmissão autossómico dominante. A transmissão dominante revela-se aproximadamente "regular": só em duas famílias se observa um "salto de gerações", com transmissores obrigatórios do gene a terem ultrapassado a "idade crítica" sem adoecer. Também não se conhecia nenhum doente que resultasse do casamento de parentes próximos. Argumento definitivo em favor da dominância é o caso de uma mulher afectada que teve quatro filhos doentes de quatro pais diferentes, enquanto se torna claro que o gene responsável pela doença se situa num locus autossómico, visto haver vários casos de homens doentes que tiveram filhos do sexo masculino também eles doentes.

... E OS DESVIOS EM RELAÇÃO À HEREDITARIEDADE DOMINANTE

No entanto, uma análise formal da taxa de segregação veio tornar igualmente evidente a "irregularidade" da dominância, manifestada quer pela penetrância incompleta, quer pela maior proporção de homens atingidos pela doença (características essas já apontadas tanto por Andrade na sua descrição original, como por Ribeiro do Rosário).

Becker et. al. fazem uma análise estatística dos dados de que dispunham (incluindo os doentes de Andrade e outros dados publicados na literatura), de forma a estimar a penetrância, ou seja, o número de indivíduos doentes entre os portadores do gene. Os valores encontrados para a proporção de doentes por fratria variavam entre 0.322 ± 0.06 e 0.506 ± 0.06 (conforme o método utilizado[7]), sugerindo os autores que o valor mais provável seja cerca de 0.40, o que, apesar de estar abaixo do esperado, não deixa de sugerir dominância (se bem que com penetrância reduzida). Por outro lado, e sendo a hereditariedade autossómica, seria de esperar um número semelhante de homens e de mulheres atingidos, o que não se verifica: 63% são homens e 37% mulheres. Os autores argumentam que tal não deverá ser devido à inclusão preferencial de homens *probandos* por estarem mais expostos do ponto de vista profissional pois, na contagem de séries de irmãos com pelo menos dois doentes, a razão entre os sexos não sofre alterações (62% e 38%). Além disso, da contagem simples de séries de fratrias com pelo

menos dois doentes resultou que, de um total de 82 irmãos (do sexo masculino), 46 são doentes e 36 saudáveis, enquanto que de um total de 79 irmãs, 37 são doentes e 52 saudáveis. Os autores sugerem que, se se considerar que a penetrância atinge os 100% no sexo masculino, então isso quererá provavelmente dizer que apenas 61% das mulheres portadoras manifestará a doença. Assumindo dominância regular no sexo masculino, a penetrância reduzida no sexo feminino seria suficiente para explicar a proporção média de doentes por fratria inferior a 0.5. Becker conclui dizendo que "não há evidência de que factores exógenos possam contribuir para a manifestação de paramiloidose no sexo masculino, enquanto que no sexo feminino poderá haver influência de factores hormonais ou factores especificamente sexuais de outra natureza".

Também Andrade e Canijo encontraram uma penetrância reduzida, tendo concluído que as diferenças entre homens e mulheres não se devem ao efeito de um outro gene ligado ao sexo mas sim fundamentalmente à idade de início mais precoce nos homens (cerca de 10 anos mais cedo que nas mulheres) e ao facto de ser mais provável que estes consultem um médico[16].

Mais tarde, Andersson[17] analisa as árvores familiares por si recolhidas na Suécia e defronta-se com um problema curioso. Enquanto que em várias famílias o modo de transmissão autossómico dominante era por demais evidente, noutra (família 1) havia um grau elevado de consanguinidade que podia levantar a possibilidade da hereditariedade recessiva. Além disso, havia alguns doentes (18) sem qualquer história familiar de doença e em muitas outras famílias vários irmãos eram afectados, embora nenhum dos progenitores o tivesse sido. Por isso, Andersson faz também uma análise formal de segregação, assumindo selecção completa e separando as fratrias com um progenitor afectado das fratrias sem qualquer progenitor afectado, tendo encontrado um valor de 26.1% e 25.9% respectivamente (p.33) para a proporção de afectados numa fratria, mais baixa portanto do que os valores encontrados por Becker[7] ou por Andrade[16]. Andersson atribui este facto à idade de início mais tardia entre os doentes suecos. Apesar dos valores encontrados sugerirem evidentemente penetrância incompleta, "the consistency of these figures agrees with a dominant mode of inheritance. With a recessive mode of inheritance, the proportion of affected within sibships would be greater if one or other of the parents had the disease than if neither of the parents had the disease (50% and 25%, respectively)."[17] (p.33).

Uma análise do mesmo tipo seria feita mais tarde no Japão por Sakoda et al.[18], encontrando valores de 46% para as fratrias com progenitor afectado e 40% para as fratrias em que nenhum progenitor tinha tido a doença.

UMA VARIABILIDADE MAIOR DO QUE A INICIALMENTE PENSADA

Se é verdade que o carácter "constante, repetitivo e monomórfico" da sua apresentação clínica foi determinante para a descoberta da PAF e a sua definição como entidade clínica separada[1], é no estudo da diversidade das idades de início, das suas peculiaridades, das diferenças (de idade de início e de penetrância) entre os vários focos, ou seja, da sua variabilidade fenotípica, que reside o fascínio desta investigação. Mas ao revermos os artigos publicados nos anos subsequentes às primeiras descrições, apercebemo-nos de que parte desta variabilidade estava já documentada desde muito cedo, apesar de não ter então sido suficientemente valorizada.

a) O alargamento do espectro das idades de início

Embora na descrição inicial Andrade afirme que o quadro clínico da PAF se inicia invariavelmente, se bem que de forma insidiosa entre os 20 e os 30 anos de idade[1], logo em 1961, Ribeiro do Rosário et al.[9] descrevem uma série de 19 doentes por eles observados em Lisboa, no Hospital de Santa Maria, dos quais oito adoeceram depois dos 40 anos de idade (quatro dos quais entre os 50 e os 60 anos de idade). Estes autores mencionam ainda uma maior benignidade dos casos com início depois dos 40 anos. Num estudo posterior, Antunes et al.[13] referem que dos 29 doentes por eles estudados, dez começavam as primeiras manifestações depois dos 45 anos (sendo cinco entre os 50 e os 60 anos e um caso com início aos 66 anos). Curiosamente também, entre seis destes doentes que tinham tido uma observação oftalmológica, quatro apresentavam sinais de opacidades do vítreo, mas os autores não referem nem as suas idades de início nem o tempo de evolução aquando do aparecimento destes sintomas.

Estas diferenças dificilmente poderiam ser hoje objecto de polémica, dado que, fundamentalmente, ambos tinham razão: dos 64 doentes observados por Andrade, 54 eram da Póvoa do Varzim ou concelhos limítrofes, área essa em que, como veremos, a doença tem um início bastante precoce, enquanto que 12 dos 29 descritos por Antunes et. al. eram oriundos da região de Unhais da Serra (Serra da Estrela), zona de origem de algumas das famílias portuguesas com início mais tardio que hoje conhecemos. Essas diferenças geográficas colocavam já a possibilidade de outros factores (genéticos? ambienciais?) influírem na variabilidade da expressão clínica da PAF.

Também Becker[7] reforça esta ideia da variabilidade geográfica e clínica, tendo sido o primeiro a sistematizar e a problematizar a partir do conhecimento dessa variabilidade.

Muitos anos antes das primeiras descrições de PAF na Suécia ou em Maiorca (com as suas idades de início mais tardias), tinha sido já enunciada a possibilidade da idade de início da PAF poder ser mais tardia e a sua expressividade mais variável do que se julgava.

b) Os casos isolados e a hipótese de novos mutantes

Como já foi citado, entre os 64 doentes constantes da descrição original de Andrade havia 13 isolados, ou seja, doentes que afirmavam que um quadro clínico semelhante era completamente desconhecido em qualquer outro membro da sua família. Contudo, o artigo de Ribeiro do Rosário et. al.[9] faz referência a uma família curiosa: uma doente (o caso número dois da descrição de Andrade), tinha começado a doença aos 30 anos e, à altura do diagnóstico, era o único membro da família a conhecer esta afecção; contudo, não apenas dois dos seus irmãos mais novos, mas também a sua própria mãe (esta aos 57 anos de idade), adoeceram *depois dela*. Os autores sugerem que "a variabilidade da idade de início, bem como a possibilidade da afecção se manifestar mais precocemente nas sucessivas gerações, podem levar-nos a classificar como isolados casos que mais tarde se revelem ser familiares" (p. 8). Dos 19 casos deste estudo, três eram isolados, com idades de início de 29, 53 e 57 anos.

Da série de 29 doentes descritos por Becker et al. fazem parte cinco casos isolados. Becker sugere que a penetrância quase total no sexo masculino se torna surpreendente em face do elevado número de casos isolados (embora não refira se estes são do sexo masculino ou feminino), mas, é de opinião, no entanto, de que a hipótese de novos mutantes é de rejeitar, o que significa que haverá sempre um progenitor portador do gene da paramiloidose, se bem que nem sempre a manifeste. Devido à penetrância incompleta no sexo feminino, só 4/5 em média dos familiares portadores que tenham ultrapassado a idade crítica deverão ser doentes. Mas é justamente para este limiar que Becker chama a atenção, pois os seus dados levam a uma amplitude das idades de início bem superior à que se poderia considerar a partir das descrições de Andrade. Isto quer dizer que se torna provável que portadores do gene, sobretudo em gerações anteriores e em zonas com uma esperança de vida mais reduzida, pudessem ter morrido antes de atingir o fim da "fase crítica". Além disso, não será impossível que entre os óbitos por motivo desconhecido de parentes pudesse haver casos de paramiloidose não diagnosticada. Se, além disso, considerarmos que a paramiloidose não se manifesta em cerca de 40% dos portadores do sexo feminino, é mais legítimo ainda supor que os doentes isolados manifestem uma mutação já presente em gerações anteriores[7].

Além disso, nas famílias (observadas ou descritas na literatura) em que fora possível identificar o progenitor transmissor, 20 casos tinham herdado o gene da mãe e só 10 do pai. Para Becker, é portanto legítimo supor que transmissores assintomáticos do sexo feminino sejam os principais responsáveis pelos casos isolados.

Estas reflexões de Becker sobre a hipótese de ocorrência de novas mutações *versus* a hipótese de penetrância incompleta do gene eram invulgares para a época, e questionavam mesmo o conceito clássico de doença autossómica dominante.

c) A *genetic fitness* e a selecção: uma vantagem selectiva para os heterozigotos?

A relação entre o número de doentes e o volume da descendência nestas famílias foi várias vezes objecto de comentários ou de reflexões, embora nunca de estudo. Ribeiro do

Rosário et. al.[9], numa referência às perturbações genésicas dos doentes, afirmam que elas só se manifestam "em fases avançadas da vida sexual, o que explica a numerosa descendência que se encontra em certos casos" (p. 17).

Por sua vez, no Congresso de Antuérpia, Andrade volta a citar Campos Rosado "Il est possible que le trouble dominant soit léthal mais il est encore trop tôt pour l'affirmer. Si cette hypothèse se vérifiait, on se trouverait devant un problème génétique intéressant, car on observerait l'existence d'un gène léthal, conservé dans une population donnée pendant plusieurs générations. Ceci pourrait s'expliquer par les deux faits suivants:

1) la maladie n'apparaît que chez des patients qui ont déjà eu la possibilité de procréer.

2) l'hétérozygote présenterait une plus grande fitness qu'un individu normal."[10] (p. 8)

Também Becker et. al.[7] se debruçaram sobre esta questão. Os seus dados apontavam para uma idade média de início de 33 anos nos homens e 44 nas mulheres. Considerando que a doença dura, em média, cerca de 12 anos, a idade de morte dos doentes masculinos situar-se-ia perto dos 45 anos, o que, acrescido ao facto da doença acarretar impotência sexual, levaria a uma diminuição do período fértil que não seria provavelmente tão drástica no sexo feminino. Becker sugere que se teste esta hipótese com um estudo da *genetic fitness* dos doentes, embora chame a atenção para o tipo de amostra a utilizar de modo a evitar enviesamentos resultantes da selecção das famílias. Também este estudo ficou até hoje por realizar.

d) As referências à antecipação na PAF

Nas árvores familiares descritas por Ribeiro do Rosário et al.[9], observava-se ocasionalmente que as idades de início de uma geração eram mais precoces do que as da geração precedente. Também Antunes et al.[9] referem que "A l'intérieur d'une même souche l'âge de début peut avancer d'une génération à la génération suivante, la maladie des enfants pouvant même précéder de plusieurs années celle du père ou de la mère" (p.14). Evidentemente, Becker não podia ter deixado em claro esta questão[7]. Mas, quer porque os

dados de que dispunha eram escassos, quer sobretudo devido à força dos argumentos de Penrose[19], Becker argumenta que se trata de uma ilusão estatística e usa para isso os argumentos clássicos: a) os indivíduos que adoecem mais tarde têm mais probabilidade de se reproduzir do que os que se manifestam mais precocemente: será então normal que entre os progenitores dos probandos se encontrem indivíduos com início em média mais tardio do que os filhos; b) as fratrias de doentes tenderão a ter apenas indivíduos adoecidos mais precocemente, visto que os mais tardios ainda não tiveram a possibilidade de se manifestar. Tal como Penrose apontou[19], o fenómeno de antecipação pode ser ampliado pelos casos em que a expressão do gene mutante dependa das várias formas possíveis do seu alelo normal (isoalelos): nessas circunstâncias, a correlação da idade de início entre progenitores e descendentes será reduzida, enquanto as idades de início dos irmãos serão mais próximas entre si e, portanto, mais alto o coeficiente de correlação intraclasse. O estudo das correlações familiares da idade de início foi feito com um número muito reduzido de dados, tendo sido encontrado um valor de 0.38 para os pares de pais-filhos e 0.23 para as fratrias, o que fez Becker concluir que o alelo normal não parece ter influência na idade de aparecimento dos sintomas.

Curiosamente, esta questão pareceu ser completamente esquecida durante décadas. Só nos finais dos anos 70 e início dos 80, quando, acompanhando o reconhecimento dos casos de início tardio em Portugal, se começou a procurar se haveria ou não uma agregação familiar desses casos tardios, e se encontraram famílias em que o início era exclusiva ou predominantemente tardio numa geração, transformando-se em clássico na geração seguinte[20]. Algumas destas famílias foram das primeiras a ser estudadas bioquimicamente, e por genética molecular[21], tendo-se concluído que a proteína associada à doença era a mesma, quer se tratasse do início clássico ou tardio.

e) Uma origem mutacional comum a todos os casos portugueses?

Becker compartilha a opinião já expressa por Klein[12] de que provavelmente todos os casos portugueses tenham origem num único mutante aparecido em tempos idos na Póvoa do Varzim e, pela primeira vez, procura encontrar e descrever um percurso possível para este gene

mutante: da Póvoa ele ter-se-ia espalhado pela costa (para Norte e para Sul) e, da Figueira da Foz, terá ido parar ao interior e a Unhais da Serra, fazendo mais tarde o percurso para Sudoeste, em direcção a Lisboa. A reforçar também esta hipótese estaria o facto de doentes observados noutros locais terem tido origem na Póvoa do Varzim.

f) As descrições da doença noutros países

Entretanto, vão surgindo descrições de PAF em outros países, especialmente no Brasil[11,14,22], nos EUA[15] e na Alemanha[23]. Contudo, todos eles se referiam a doentes portugueses ou de ascendência portuguesa próxima, o que fazia que a doença fosse ainda considerada quase exclusivamente uma doença dos portugueses.

Quando, em 1968, Araki et. al.[24] descrevem a primeira família japonesa de Arao, distrito de Kumamoto, ficou a porta aberta para a possibilidade de uma extensão da doença muito superior ao esperado e ao conhecido, e muitas interrogações acerca das viagens possíveis deste gene mutante. Uns anos mais tarde, um outro foco japonês foi descrito em Ogawa[25]. Desde então outros doentes têm sido descritos noutras províncias do Japão, mas é em Arao e Ogawa que se concentram a maioria dos doentes daquele que se supõe ser hoje o segundo foco mundial da PAF. Os doentes japoneses caracterizam-se por terem, regra geral, apresentação clínica, idades de início e duração total muito semelhantes às dos doentes portugueses[25-27]. Tal como em Portugal, nos últimos anos têm sido aí descritos diversos doentes tardios[28,29].

As primeiras descrições de PAF na Suécia, feitas por Andersson e Kassman[30], levantam de novo o problema da variabilidade. Além de descreverem doentes com idades de início muito tardias, excepcionais para os outros focos da doença, a apresentação clínica era por vezes um pouco invulgar, com opacidades do vítreo importantes e precedendo mesmo (em dois doentes) os primeiros sinais de polineuropatia. Num caso de polineuropatia pouco específica, o diagnóstico correcto só foi possível depois de terem sido observadas opacidades do vítreo numa prima do doente. Por isso os autores sublinham a importância que pode ter a observação oftalmológica para o diagnóstico da PAF. Numa segunda publicação, já com 18 casos

observados[31], Andersson descreve uma variabilidade de idade de início entre 29 e 63 anos e assinala que pode haver diferenças importantes de idade de início e de curso da doença entre famílias.

O mesmo autor, na sua tese de doutoramento em 1976[17], estudou a distribuição geográfica dos 60 doentes suecos então conhecidos e sublinhou a sua concentração nos distritos de Västerbotten e Norrbotten no norte da Suécia. A idade de início desses doentes variava entre 29 e 75 anos de idade (com uma média de 53.0 e um desvio-padrão de 11.4 anos, ou seja, cerca de 20 anos mais tardia do que nos doentes portugueses).

Andersson afirma ainda que, do ponto de vista clínico, os doentes suecos são muito semelhantes aos portugueses, apesar das discrepâncias quanto à idade de início e quanto à frequência de opacidades do vitreo. Também Andrade, em 1975[5] classificou estes casos observados na Suécia como pertencentes ao fenótipo PAF-tipo I.

Recentemente, já na década de 80, foi descrito um pequeno foco na ilha de Maiorca[32,33], cuja particularidade é ter um início intermédio (média 43.2) entre o dos doentes portugueses e o dos doentes suecos.

g) O reconhecimento lento e gradual dos casos de início tardio em Portugal

Em 1975, Andrade faz pela primeira vez referência a um " pequeno mas significativo grupo de doentes" por ele observados em que o início se fazia entre os 35 e os 50 anos de idade[5].

Uns anos mais tarde, numa revisão de 483 doentes, Coutinho et al.[34] analisam também as características clínicas dos casos tardios, concluindo que, ao longo de um espectro muito variável de idades de início (podendo mesmo ir até aos 68 anos), é afinal a mesma doença que se manifesta. Nesse mesmo artigo é também feita referência à agregação familiar dos casos tardios através da descrição de uma família em que ambos os progenitores morreram depois dos

80 anos sem sinais de doença e os seus descendentes só manifestaram os primeiros sintomas de PAF em idades particularmente tardias: 68, 55 e 47 anos de idade.

Num outro artigo, Bastos Lima e Martins da Silva[20] afirmam que em 12.5% dos 536 doentes portugueses até então conhecidos o início da doença se faz a partir dos 40 anos (casos esses que eles denominam de *tardios*) e que esses casos pertencem a famílias de início exclusiva ou predominantemente *tardio*: "in 12 families late-onset cases are dominant and in 6 of them there are only late-onset cases in the family tree, either in the same or in different generations" (p. 102). Procuram ainda traçar o perfil clínico deste grupo particular de doentes, comparando-os com a série global de casos analisados por Coutinho et. al.[34], concluindo que não apresenta diferenças substanciais com os doentes mais "clássicos", tanto do ponto de vista do modo de início, como da progressão ou da duração da doença, achando contudo que estes casos têm algumas semelhanças com os descritos por Andersson, se bem que estes pareçam apresentar uma progressão mais lenta (p. 105).

Muito mais recentemente, foram feitos outros estudos dos casos tardios, quer para confirmar a sua agregação familiar[35-37], quer para demonstrar que a sua evolução clínica pode ser mais lenta e benigna do que os casos ditos clássicos[37]. Também se levantou a hipótese de que factores genéticos associados ao processo do envelhecimento pudessem ser responsáveis pelo início mais tardio na PAF[36,38].

h) As questões abertas pela descoberta do marcador bioquímico

Em 1978, Costa et al. demonstraram que, na PAF, a transtirretina (TTR) era o constituinte principal das fibrilhas de amilóide[39]. Alguns anos mais tarde, Saraiva et al. descobriram[40,41] que no plasma dos doentes de PAF (e em cerca de metade dos seus filhos[21]) circulava uma proteína anormal, resultante da substituição de uma valina por uma metionina na posição 30, desenvolvendo vários métodos para detectar esse "marcador bioquímico"[42,43]. Do nosso conhecimento, a PAF foi a primeira doença autossómica dominante de início tardio na qual foi

possível desenvolver um teste directo que, numa fase pré-clínica, pudesse distinguir (entre os indivíduos em risco) os portadores dos não-portadores do gene.

A descoberta deste marcador foi de grande utilidade para o estudo da variabilidade fenotípica, dado que veio permitir:

1) Estabelecer que a mesma mutação da TTR (TTR^{Met30}) está associada à PAF em Portugal[40], no Japão[44], na Suécia[45,46], em Maiorca[33] e no Brasil (P. Pinho Costa, comunicação pessoal), apesar de algumas diferenças de expressividade e de idade de início.

2) Verificar que a mutação é a mesma nos casos "clássicos" e nos casos de início mais tardio, excluindo assim a hipótese de heterogeneidade genética entre famílias "clássicas" e famílias de início "tardio"[38,43].

3) Confirmar a presença da TTR mutante em casos isolados, ou seja, confirmar o diagnóstico de PAF-tipo I em indivíduos sem história familiar da doença.

4) Descobrir portadores comprovados da mutação que, por vezes em idades tão tardias como 90 anos, se mantinham completamente assintomáticos (sendo que, por vezes, alguns dos seus descendentes ou colaterais já tinham adoecido[36,38,43]), o que era particularmente frequente no caso dos progenitores dos doentes tardios.

5) Excluir, em princípio, a possibilidade de novas mutações, ao comprovar (nos casos que foi possível testar) que em doentes isolados, um dos progenitores saudáveis era, afinal, portador assintomático da TTR^{Met30} [47]. Nunca houve nenhuma situação em que ambos os progenitores tenham sido testados e fossem negativos, o que, em princípio, nos faz excluir a hipótese de novas mutações. Daqui resulta, não só que uma nova mutação é um acontecimento raro, como também que a sua probabilidade é difícil de quantificar pelos métodos clássicos devido à existência de famílias em que os progenitores permanecem assintomáticos em idades avançadas, mesmo para além das idades de início conhecidas.

Ou seja, o marcador bioquímico veio confirmar, não só que alguns portadores da mutação nunca a exprimem, mas também que os casos tardios, os portadores assintomáticos de idade avançada e os casos isolados, mais não eram do que o extremo de um contínuo de idades de aparecimento dos sintomas, alargando assim à direita o espectro da variabilidade possível das idades de início.

Assim, algumas das questões levantadas por Becker, no que diz respeito à expressividade variável, à penetrância incompleta, e aos casos isolados, puderam começar a ser equacionadas de uma outra forma após as descobertas bioquímicas e de genética molecular.

Sequeiros e Saraiva[38] sugerem algumas hipóteses para a explicação do início tardio e da penetrância incompleta, e da sua aparente agregação familiar: "One of the possible hypothesis is that one or more genetic modifiers, with or without epistasis, are responsible for the variation found in the age-of-onset. Genetic factors, such as those responsible for aging and longevity, for instance, may interfere with the TTR^{Met30} mutant to determine the rate of the degenerative process, and thus the age-of-onset or the absence of symptoms" (p. 354).

De notar que a descoberta do marcador bioquímico (TTR^{Met30}) e do gene também permitiu alargar o espectro de idades de início noutros focos como no Japão (onde nos últimos anos também têm sido descritos doentes bem mais tardios do que os que constavam das descrições iniciais[28,29]). Além disso, permitiu ainda o diagnóstico de novos casos de PAF^{Met30}, como no foco maiorquino[32,33] e em várias famílias italianas[48], gregas[49], cipriotas[50], numa família turca[51,52], numa família finlandesa[53], numa outra da Argentina[54] e em famílias americanas de origens diversas[55].

i) A heterogeneidade genética da TTR

Nos últimos anos temos vindo a assistir à descoberta de um grande número de mutações do gene da TTR, umas patogénicas, outras não (para revisão, ver Saraiva,MJM et al.[56], Costa, PM et al.[57] e Saraiva, MJM[58]). Com a possibilidade do reconhecimento das mutações, a classificação da doença passou a incluir a referência à proteína mutante. Têm no entanto sido

encontradas semelhanças fenotípicas entre mutações diferentes e também, como é o caso da PAF^{Met30}, diferenças fenotípicas dentro da mesma mutação. Ou seja, não há correspondência entre genótipo e expressão fenotípica[56,58].

Quanto ao Japão, o segundo foco mundial de PAF-tipo I, que se pensou ser homogéneo aquando das primeiras confirmações da sua associação com a TTR^{Met30} e apesar de esta ser de longe a mutação mais significativa, já foram descritas três mutações distintas da TTR^{Met30} [59-62]. Também nas famílias italianas se encontraram diferentes mutações[63-66].

Curiosamente, tanto em Portugal como no Brasil e na Suécia, só a TTR^{Met30} foi até agora encontrada associada à PAF. São todavia conhecidos em Portugal exemplos de indivíduos portadores de mutações não patogénicas como a TTR^{Met119} [67], a TTR^{Ser6} [68] e a TTR^{Asn90} [69,70]. Foi também descrito um doente, heterozigoto composto Met30/Met119, cuja evolução parece ser mais benigna[71]. O possível efeito de outras mutações alélicas sobre o gene da PAF permanece ainda por esclarecer.

j) Haverá uma origem comum aos diversos focos de PAF-Met30?

Uma outra questão que ganhou nova perspectiva de estudo após a descoberta do gene foi a sua origem mutacional nos vários focos da doença, através do estudo de haplótipos. Os resultados até agora apresentados apontam para uma origem mutacional comum a todos os casos portugueses[72], e para uma possível recorrência da mutação no Japão, já que aí foram encontrados três haplótipos distintos[73]. Num estudo mais recente são comparados casos portugueses e suecos, tendo sido encontrado o mesmo haplótipo, o que pode sugerir um acontecimento mutacional comum aos doentes dos dois países[74]. Permanece por esclarecer se o gene mutante foi trazido da Escandinávia para a zona da Póvoa/Vila do Conde [75] ou se, pelo contrário, foi daqui levado para o Báltico[76].

k) Os homozigotos na PAF

Em 1987, participei num estudo[77] cujo objectivo era avaliar da existência de homozigotos para o gene da PAF, dado que, até à altura e, apesar de se conhecerem em Portugal múltiplos casamentos dentro ou entre famílias afectadas (incluindo entre doentes), não se conhecia nenhum caso de fenótipo mais grave ou idade de início mais precoce entre os descendentes. Desenvolvemos na altura um método de análise de segregação para testar as hipóteses possíveis: 1) a PAF era um exemplo de dominância completa, ou seja, os homozigotos são fenotipicamente indistinguíveis dos heterozigotos, ou 2) os homozigotos têm um fenótipo muito mais grave, mas são seleccionados precocemente *in utero* (dado que, apesar das múltiplas oportunidades, nunca se tinha encontrado um fenótipo mais grave entre a descendência dos referidos casamentos). No primeiro caso, a proporção de doentes entre os descendentes de um casal de afectados seria 3/4, enquanto no segundo seria de 2/3. Na altura, dado o reduzido tamanho da amostra e a proximidade entre as duas proporções, não foi possível detectar diferenças significativas entre uma proporção e outra, tendo ficado a possibilidade de, apenas por acaso, ainda não se ter encontrado nenhum homozigoto.

Curiosamente, a resposta a esta questão veio da Suécia logo uns meses a seguir[78]: em 1988 era descrita uma fratria de um irmão e uma irmã, ambos homozigotos para o gene da TTR^{Met30}, ele tendo iniciado a doença aos 49 anos (numa idade muito semelhante aos heterozigotos suecos) e ela estando *ainda assintomática aos 62 anos*. Esta descrição, apesar de ter resultado de um acaso laboratorial na confirmação do diagnóstico no probando (dado que não havia descrição de doença em nenhum dos progenitores), é de uma máxima importância para a discussão dos modelos genéticos da etiopatogenia da doença. Depois da doença de Huntington[79,80], a PAF é o segundo caso de dominância completa conhecido em doenças humanas. Desde então têm sido descritos outros homozigotos na Suécia (num total de sete[81,82]), Turquia[52] (aliás os únicos doentes até agora ali descritos) e Japão (onde os homozigotos se situavam dentro do espectro mais tardio das idades de início[83], ou eram ainda assintomáticos aos 49[84] ou 59 anos[83]). Em Portugal, apesar de muitos cruzamentos entre famílias afectadas, só

um caso de homozigotia foi até agora encontrado, não se encontrando ainda publicado (Pedro Pinho Costa e Teresa Coelho, comunicação pessoal).

A IMPORTÂNCIA DA COMPARAÇÃO DO FOCO PORTUGUÊS E DO FOCO SUECO PARA O ESTUDO DA VARIABILIDADE FENOTÍPICA

Resumindo, poderemos dizer que os últimos anos de investigação sobre a PAF^{Met30} têm confirmado uma variabilidade fenotípica muito maior do que a inicialmente suposta. Esta constatação abre novas portas para o uso de velhas ferramentas nos estudos de genética quantitativa, ou seja, procurar outras explicações para as diferenças encontradas que não a heterogeneidade genética.

Por isso foi importante ter tido a oportunidade de estudar os casos suecos, onde o que era raro aqui (caso tardios e isolados) era ali o mais frequente, numa espécie de imagem em espelho. Daí que, um dos objectivos principais deste trabalho tenha sido procurar demonstrar as semelhanças e as diferenças principais entre a variabilidade fenotípica da PAF em Portugal e na Suécia.

OBJECTIVOS DESTE ESTUDO

1) Conhecer a prevalência da doença, ou seja, a sua densidade numa dada população, e as variações dessa densidade no tempo. Em Portugal analisou-se de forma mais detalhada a região da Póvoa/Vila do Conde, tendo sido comparadas as características epidemiológicas desses doentes em dois anos de Censo, 1981 e 1991 (Capítulo 3).

2) Estudar a distribuição geográfica dos doentes e famílias nos dois distritos mais a norte da Suécia, Västerbotten e Norrbotten, dando especial atenção a duas área geográficas, uma à volta da cidade de Skellefteå e outra à volta da cidade de Piteå. Foram feitas comparações das prevalências e incidências ao longo do tempo, através de cortes transversais correspondentes a diferentes anos de Censo (1970,1975,1980 e 1985)(Capítulo 4).

3) Documentar o mais exaustivamente possível a variabilidade de sintomas de apresentação e de idade de início e os factores a ela associados, usando fundamentalmente a idade de início como instrumento de medida dessa variabilidade: entre o foco português e o foco sueco; entre diferentes zonas geográficas dentro do mesmo foco; entre famílias; entre indivíduos da mesma família. (Capítulo 5).

4) Tratar duma forma particular os casos mais "atípicos", como os tardios e os isolados (em Portugal) e os homozigotos na Suécia, bem como aqueles cuja apresentação clínica é relativamente pouco clássica, como opacidades do vítreo. Procurar detectar factores da sua eventual agregação familiar ou identificar diferentes sub-grupos de doentes com diferentes riscos no que diz respeito à precocidade de manifestação da doença. (Capítulo 5)

5) Procurar os "desvios" em relação à hereditariedade autossómica dominante clássica (por exemplo, a influência do sexo do progenitor na idade de início) e discutir possíveis modelos para a variabilidade encontrada (Capítulo 5 e 6). Comparar as correlações da idade de início entre pares de pais-filhos e entre irmãos e discutir modelos genéticos para a variabilidade da idade de início (Capítulo 5).

6) Dar especial atenção à variabilidade entre gerações e à problemática da antecipação da idade de início, procurando corrigir a amostra para as fontes de enviesamento apontadas por Penrose[19]. Em seguida, e dado que a hipótese central de Penrose era que os pares complementares (início precoce nos pais e tardio nos filhos) deveriam ser tão frequentes como os de início tardio nos pais e precoces nos filhos, propus-me investigar (retrospectivamente) a possibilidade desses pares terem aparecido, procurando conhecer as idades de início ou de morte dos indivíduos tardios encontrados na amostra global. Foi ainda objectivo deste estudo testar a hipótese da antecipação ser apenas o resultado da regressão para a média, ao estudar a regressão linear da antecipação na idade de início do progenitor afectado. (Capítulo 6).

7) Fazer pela primeira vez um estudo sobre a fertilidade dos doentes de PAF, se bem que limitado à região da Póvoa/Vila do Conde, comparando, numa primeira abordagem, a fertilidade dos homens e das mulheres doentes que já tinham completado o seu período

reprodutor (ou por morte, ou por terem atingido os 45 anos de idade) e, numa segunda fase, comparando a fertilidade das mulheres doentes vivas em 1991 com as mulheres da população geral, usando os dados do Censo de 1991 (Capítulo 7).

BIBLIOGRAFIA

1 Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy. *Brain* 1952;**75**:408-427.

2 Rukavina JG, Block WD, Jackson CE, Falls HF, Carey JH, Curtis AC. Primary systemic amyloidosis. A review and an experimental, genetic and clinical study of 29 cases with particular emphasis on the familial form. *Medicine (Baltimore)* 1956;**35**:239-334.

3 Van Allen MW, Frohlich JA, Dairs JR. Inherited predisposition to generalized amyloidosis. *Neurology (Minneap)* 1969;**19**:10-25.

4 Mahloudji M, Teasdall RD, Adamkiewicz JJ, Hartmann WH, Lambird PA, McKusick VA. The genetic amyloidoses, with particular reference to hereditary neuropathic amyloidosis, Type II (Indiana or Rukavina type). *Medicine (Baltimore)* 1969;**48**:1-37.

5 Andrade C. Hereditary amyloid neuropathy. In: Vinken PJ, Bruyn GW, (eds).*Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam and Oxford: North-Holland Publishing Company, 1975:119-143.

6 Meretoja J. Genetic aspects of familial amyloidosis with corneal lattice dystrophy and cranial neuropathy. *Clin Genet* 1973;**4**:173-185.

7 Becker PE, Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F. Paramyloidose der peripheren Nerven in Portugal. *Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre* 1964;**37**:329-364.

8 Furtado D, Gonçalves A, Carvalho O. Paramiloidose de forma nevrítica. *J Méd (Porto)* 1952;**20**:977-983.

9 Ribeiro do Rosário M, Antunes L, Barros F. Contribuiço para o estudo clínico e laboratorial da paramiloidose de Corino de Andrade. *J Soc Cien Méd* 1961;**75**:1-46.

10 Andrade C. Clinique de la paramyloïdose du type portugais. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl.2**:3-11.

11 Mello AR. Polineuropatia amiloidótica familiar. *J Bras Med* 1959;**1**:161-218.

12 Klein D. La polyneuropathie amyloïde héréditaire. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl. 2**:49-53.

13 Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F, Silva P, Coelho B. Études sur la paramyloïdose portugaise à forme polynévritique (type C. Andrade): I-Remarques sur le tableau clinique et résultats de quelques examens complémentaires. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl. 2**:12-18.

14 Julião OF, Mignone C. Amiloidose primária com comprometimento meningo-radículo-neurítico. *Arq Neuro-psiq (S Paulo)* 1955;**13**:1-12.

15 Munsat TL, Poussaint AF. Clinical manifestations and diagnosis of amyloid polyneuropathy. Report of 3 cases. *Neurology (Minneap)* 1962;**12**:413.

16 Andrade C, Canijo M, Klein D, Kaelin A. The Genetic Aspect of the Familial Amyloidotic Polyneuropathy. *Humangenetik* 1969;**7**:163-175.

17 Andersson R. Familial Amyloidosis with Polyneuropathy: A Clinical Study Based on Patients Living in Northern Sweden. *Acta Med Scand* 1976;**Suppl.590**:1-64.

18 Sakoda S, Suzuki T, Higa S, Ueji M, Kishimoto S, Hayashi A, Yasuda N, Takaba Y, Nakajima A. Genetic studies of familial amyloid polyneuropathy in the Arao district of Japan - I. the genealogical survey. *Clin Genet* 1983;**24**:334-338.

19 Penrose LS. The problem of anticipation in pedigrees of Dystrophia Myotonica. *Ann Eugen* 1948;**14**:125-132.

20 Bastos Lima A, Martins da Silva A. Clinical evaluation of late-onset cases in Type I (Andrade) Amyloid Neuropathy. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds) *Amyloid and Amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

21 Saraiva MJM, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Amyloid Fibril Protein in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Portuguese Type - Definition of Molecular Abnormality in Transthyretin (Prealbumin). *J Clin Invest* 1984;**74**:104-109.

22 Julião OF. Aspectos clínicos da neuropatia amilóide. Considerações a propósito de 14 casos. *Rev Paul Med* 1963;**63**:349-352.

23 Erbslöh F. Ein seltene Form der chrönisch fortschreitenden Polyneuritis (familiäre Paramiloidose). *Materia Med Nordmark* 1961;**13**:157.

24 Araki S, Mawatari S, Ohta M, Nakajima A, Kuroiwa Y. Polyneuritic amyloidosis in a Japanese family. *Arch Neurol* 1968;**18**:593-602.

25 Kito S, Itoga E, Kamiya K, Kishida T, Yamamura Y. Studies on Familial Amyloid Polyneuropathy in Ogawa Village, Japan. *Eur Neurol* 1980;**19**:141-151.

26 Araki S, Kuriahara T, Tawara S, Kuribayashi T. Familial Amyloidotic Polyneuropathy in Japanese. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds)*Amyloid and Amylodosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:67-77.

27 Araki S, Ikegawa S, Yi S, Ando Y, Murakami T, Miyazaki A, Nishiguchi S. Familial Amyloidotic Polyneuropathy in Japan - review of recent studies in Kumamoto district. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1988;**3(9)**:29-41.

28 Araki S, Ikegawa S, Murakami T, et al. Atypical cases of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) type I in Japan. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds)*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:267-270.

29 Yamamura Y, Kito S, Harada T, Katayama S, Shimoyama M, Takeshima T, Inai Y, Nakano T. Sporadic, late-onset case of familial amyloid polyneuropathy type I (Andrade) - a Clinicopathological study. *Amyloid and Amyloidosis* 1990;**1**:698-701.

30 Andersson R, Kassman T. Vitreous opacities in primary familial amyloidosis. *Acta Opthal* 1968;**46**:441-447.

31 Andersson R. Hereditary Amyloidosis with Polyneuropathy. *Acta Med Scand* 1970;**188**:85-94.

32 Munar-Quès M, Costa PP, Saraiva MJM. FAP type I (Portuguese form) in the island of Mallorca (Spain)-study of five families. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1988;**3(9)**:17-27.

33 Munar-Quès M, Costa PP, Saraiva MJM. The Majorcan focus of Familial Amyloidotic Polyneuropathy type I. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds)*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:13-18.

34 Coutinho P, Silva AM, Lima LJ. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds)*Amyloid and amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

35 Lobato L, Teixeira F, Sousa A, Sequeiros J. Genetic Study of Late-Onset in Hereditary Amyloid Neuropahty (HAN) - Type I (Portuguese, Andrade). In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds)*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:441-446.

36 Sousa A, Lobato L, Sequeiros J. Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (português, Andrade) - Variação familiar e modelos genéticos. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1988;**3**:63-69.

37 Ribeiro I, Coutinho P. Late-onset forms of familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese type): a reappraisal. In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds)*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:435-440.

38 Sequeiros J, Saraiva MJM. Onset in the Seventh Decade and Lack of Symptoms in Heterozygotes for the TTR Met30 Mutation in Hereditary Amyloid Neuropathy-TypeI (Portuguese, Andrade). *Am J Med Genet* 1987;**27**:345-357.

39 Costa PP, Figueira A, Bravo F. Amyloid fibril protein related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;**75**:4499-4503.

40 Saraiva MJM, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Trans Ass Am Phys* 1983;**96**:261-270.

41 Costa PP, Saraiva MJM. Familial amyloidotic polyneuropathy: screening of the population at risk in Portugal. In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds)*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:425-428.

42 Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS. Biochemical marker in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *J Clin Invest* 1985;**76**:2171-2177.

43 Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS. Genetic expression of a transthyretin mutation in typical and late-onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 1986;**36**:1413-1417.

44 Tawara S, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Araki S. Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun* 1983;**116**:880-888.

45 Nakazato M, Steen L, Holmgren G, Matsukura S, Kangawa K, Matsuo H. Structurally abnormal transthyretin causing familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden. *Clin Chem Acta* 1987;**167**:341-342.

46 Holmgren G, Holmberg E, Lindstrom A, Lindtsrom E, Nordenson I, Sandgren O, Steen L, Svensson B, Lundgren E, Von Gabain A. Diagnosis of familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden by RFLP analysis. *Clin Genet* 1988;**33**:176-180.

47 Costa PP, Saraiva MJM. FAP: Screening of the Population at risk in Portugal. In: Sales-Luís ML, Almeida LB, Costa PP, (eds).*Symposium on Peripheral Neuropathies*. 1986:261-263.

48 Salvi F, Ferlini A, Plasmati R, et al. Familial amyloidotic polyneuropathy in Italy. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin releted disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:19-24.

49 Cohen AS, Skinner M, Anderson J, Simms RW. Hereditary greek amyloidosis. A study of six families. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:25-28.

50 Holt IJ, Middleton L, Said G, Harding AE, Chrysostomou G, King RHM, Thomas PK. Molecular genetics of amyloid neuropathy in Europe. *Lancet* 1989;524-526.

51 Erken E, Skinner M, Yazici H, et al. First Turkish family wit FAP has homozygous met30 TTR. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:595-598.

52 Skare J, Yazici H, Erken E, Dede H, Cohen A, Milunsky A, Skinner M. Homozygosity for the met30 transthyretin gene in a turkish kindred with familial amyloidotic polyneuropathy. *Hum Genet* 1990;

53 Drugge U, Holmgren G, Udd B. The first case of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP Met30) in the Finnish population. *Hum Hered* 1992;**42**:184-188.

54 Yamamoto K, Yoshida K, Ikeda S, Devechi A, Hsu SP, Yanagisawa N. Familial amyloid polyneuropathy (FAP) in Argentina and Taiwan. In: Kisilevsky R, Benson MD, Frangione B, Gauldie J, Muckle TJ, Young ID, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. New York and London: Parthenon Publishing, 1993:459-461.

55 Gertz MA, Kyle RA, Thibodeau SN. Familial Amyloidosis: A study of 52 North American-Born Patients Examined During a 30-Year Period. *Mayo Clinical Proc* 1992;**67**:428-440.

56 Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS. Transthyretin and familial amyloidotic polyneuropathy. In: Rosenberg RN, Prusiner SB, Di Mauro S, Barchi RL, Kunkel LM, (eds).*The Molecular and Genetics Basis of Neurological Disease*. London: Butterworths, 1993:889-894.

57 Costa PMP, Teixeira A, Saraiva MJM, Costa PP. Immunoassay for Transthyretin Variants associated with Amyloid Neuropathy. *Scand J Immunol* 1993;**38**:177-182.

58 Saraiva MJM. Transthyretin Mutations in Health and Disease. *Hum Mut* 1995;**5**:191-196.

59 Ueno S, Uemichi T, Takahashi N, Soga F, Yorifuji S, Tarui S. Two novel variants of transthyretin identified in Japanese cases with familial amyloid polyneuropathy: Transthyretin (Glu42 to Gly42) and transthyretin (Ser50 to Arg). *Biochem Biophys Res Commun* 1990;**169**:1117-1121.

60 Ueno S, Uemichi T, Yorifuji S, Tarui S. A novel variant of transthyretin (Tyr 114 to Cys) deduced from the nucleotide sequences of gene fragments from familial amyloidotic polyneuropathy in Japanese siblings cases. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;**169**:143-147.

61 Ueno S, Uemichi T, Takahashi N, Soga F, Yorifuji S, Tarui S. Three novel variants of transthyretin identified in three japanese kindreds with familial amyloidotic polyneuropathy. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:622-625.

62 Uemichi T, Ueno S, Fujimura H, Umekage T, Yorifuji S, Matsuzawa Y, Tarui S. Familial amyloid polyneuropathy related to transthyretin Gly42 in a japanese family. *Mus & Nerv* 1992;**15**:904-911.

63 Saraiva MJM, Costa PP, Almeida MR, Banzhoff A, Altland K, Ferlini A, Rubboli G, Plasmati R, Tassinari CA, Romeo G, Salvi F. Familial amyloidotic polyneuropathy: transthyretin (prealbumin) variants in kindreds of Italian origin. *Hum Genet* 1988;**80**:341-343.

64 Almeida MR, Gawinowicz MA, Costa PP, et al. A new transthyretin variant associated with familial amyloidotic polyneuropathy in an italian kindred. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:599-602.

65 Salvi F, Plasmati R, Michelucci R, et al. Clinical characterization of a new TTR variant in an italian family: TTR ALA 49. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:691-693.

66 Almeida MR, Ferlini A, Forabosco A, Gawinowicz M, Costa PP, Salvi F, Plasmati R, Tassinari CA, Altland K, Saraiva MJ. Two Transthyretin Variants (TTR Ala-49 and TTR Gln-89) in Two Sicilian Kindreds With Hereditary Amyloidosis. *Hum Mut* 1992;**1**:211-215.

67 Alves IL, Altland K, Almeida MR, Becher P, Costa PP, Saraiva MJM. Screening of TTR variants in the Portuguese population by HIEF. *The Journ of Rheum* 1993;**20**:185 (Abstract).

68 Jacobson DR, Alves IL, Saraiva MJ, Thibodeau SN, Buxbaum JN. Transthyretin Ser6 gene frequency in individuals without amyloidosis. *Am J Hum Genet* (em publicação).

69 Saraiva MJM, Almeida MR, Alves IL, Moreira P, Gawinowicz M, Costa PP, Rauh S, Banhzoff A, Altland K. Molecular Analyses of an Acidic Transthyretin Asn 90 Variant. *Am J Hum Genet* 1991;**48**:1004-1008.

70 Alves I, Almeida MR, Skare J, Skinner M, Kurose K, Sakaki Y, Costa PP, Saraiva MJM. Amyloidogenic and non-amyloidogenic transthyretin Asn 90 variants. *Clin Genet* 1992;**42**:27-30.

71 Coelho T, Carvalho M, Saraiva MJM, Alves I, Almeida MR, Costa PP. A strikingly benign evolution of FAP in an individual found to be a compound heterozygote for two TTR mutations: TTR Met30 and TTR Met 119. *The Journ of Rheum* 1993;**20**:179 (Abstract).

72 Almeida MR, Sasaki H, Sakaki Y, et al. Haplotype analysis of different FAP individuals with methionine 30 mutation in Europe. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:189-192.

73 Yoshioka K, Furuya H, Sasaki H, Saraiva MJM, Costa PP, Sakaki Y. Haplotype analysis of familial amyloidotic polyneuropathy: evidence for multiple origins of the Val->Met mutation most common to the disease. *Hum Genet* 1989;**82**:9-13.

74 Almeida MR, Aoyama-Oishi N, Sakaki Y, Holmgren G, Drugge U, Ferlini A, Salvi F, Munar-Quès M, Benson MD, Skinner M, Costa PP, Saraiva MJ. Haplotype analysis of common transthyretin mutations. *Hum Genet* (em publicação).

75 Sequeiros J. Genetics of hereditary amyloid neuropathy. In: Sales-Luís ML, Almeida LB, Costa PP, (eds).*Symposium on Peripheral Neuropathies*. Lisbon: 1986:251-259.

76 Drugge U. Familial amyloidosis with polyneuropathy (FAP) in Sweden - Some notes on its Historical Background. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:1-7.

77 Sequeiros J, Sousa A. Is the homozygous state for hereditary amyloid neuropathy (HAN) - type I (Portuguese, Andrade) incompatible with early intrauterine life? In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:413-418.

78 Holmgren G, Haetnner E, Nordenson I, Sandgren O, Steen L, Lundgren E. Homozygosity for the transthyretin-met30-gene in two Swedish sibs with familial amyloidotic polyneuropahty. *Clin Genet* 1988;**34**:333-338.

79 Wexler NS, Young AB, Tanzi RE, Travers H, Rubinstein SS, Penney JB, Snodgrass SR, Shoulson I, Gomez F, Arroyo MAR, Penchaszadeh GK, Faryniarz A, Hobbs W, Anderson MA, Bonilla E, Conneally PM, Gusella JF. Homozygotes for Huntington's disease. *Nature* 1987;**326**:194-197.

80 Myers RH, Leavitt J, Farrer LA, Jagadeesh J, McFallane H, Mastromauro CA, Mark RJ, Gusella JF. Homozygote for Huntington disease. *Am J Hum Genet* 1989;**45**:615-618.

81 Holmgren G, Bergström S, Drugge U, Lundgren E, Nording-Sikström C, Sandgren O, Sten L. Homozygosity for the transthyretin-Met30-gene in seven individuals with familial amyloidosis with polyneuropathy detected by restriction enzyme analysis of amplified genomic sequences. *Clin Genet* 1992;**41**:39-41.

82 Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, Sousa A. Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study. *Clin Genet* 1991;**40**:452-460.

83 Yoshinaga T, Nakazato M, Ikeda S, Ohnishi A. Homozygosity for the transthyretin-Met30 gene in three Japanese siblings with type I familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 1992;**42**:2045-2047.

84 Ikeda S, Nakano T, Yanagisawa N, Nakazato M, Tsukagoshi H. Asymptomatic Homozygous Gene Carrier in a Family with Type I Familial Amyloid Polyneuropathy. *Eur Neurol* 1992;**32**:308-313.

2. A RECOLHA DE DADOS

2.1 INTRODUÇÃO

É raro que um investigador tenha acesso e possa trabalhar directamente grandes colecções de dados de dois focos de uma mesma doença, separados por milhares de quilómetros e por uma história e uma genética distintas. Por isso, a primeira coisa que me ocorre dizer quanto à recolha do material para esta tese, é que fui uma pessoa privilegiada.

Contudo, a PAF tem tido impactos e importâncias diferentes em Portugal e na Suécia (quer do ponto de vista social, quer do ponto de vista clínico e de investigação), que se traduziram também na forma de recolha e organização dos dados ao longo dos anos. Enquanto que no estudo da PAF em Portugal usei o arquivo do Centro de Estudos de Paramiloidose, na Suécia participei de certo modo na construção do próprio registo. Mas, em qualquer dos casos, precisei de recolher novos dados ou de reformular os existentes.

Penso ainda que, se esses dados não estavam recolhidos ou sistematizados, foi precisamente porque ainda não tinha sido sentida a necessidade de se discutir algumas das

hipóteses que agora apresento, o que faz com que o planeamento para esta recolha tenha sido também ele, num certo sentido, original.

Em cada capítulo serão detalhados os sujeitos e os métodos a ele relativos. Por isso tratarei aqui apenas dos aspectos mais gerais da recolha de dados em Portugal e na Suécia, das dificuldades, das diferenças de critérios (e dos problemas daí resultantes), bem como das diferentes possibilidades de investigação. Uma vez que o objectivo deste trabalho foi não só estudar cada um dos focos mas também compará-los, gostaria de discutir em que medida os resultados serão comparáveis, apesar das diferenças metodológicas mencionadas.

2.2 A RECOLHA DE DADOS EM PORTUGAL

2.2.1 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE DOENTES (O ARQUIVO DO CENTRO DE ESTUDOS DE PARAMILOIDOSE)

Desde que Corino de Andrade observou, em 1939, a primeira doente com polineuropatia amiloidótica familiar, o Serviço de Neurologia do Hospital Geral de Santo António no Porto e, mais tarde, o Centro de Estudos da Paramiloidose (CEP), foram sendo depositários de um precioso material (clínico, laboratorial e genealógico) respeitante aos doentes com PAF e seus familiares. Ainda hoje me emociono ao reler alguns dos processos antigos, escritos à mão pelo Dr. Corino, que são um monumento ao rigor científico, à inteligência, à curiosidade e à paixão.

Nos anos subsequentes à descoberta da doença, Corino de Andrade e os seus colaboradores fizeram vários levantamentos de doentes. Famílias inteiras foram observadas pelos neurologistas, no intuito não só de detectar novos indivíduos doentes e conhecer a extensão da doença, mas também de promover a investigação básica e clínica.

Mais tarde, em 1972, é criado no Hospital de Santo António do Porto o Centro de Estudos da Paramiloidose com funções oficiais de assistência aos doentes e de promoção do rastreio de famílias (doentes e indivíduos em risco) a nível nacional. Os programas de prevenção da doença e do seu acompanhamento previam também que tanto os indivíduos doentes como os seus familiares em risco fossem observados anualmente. Com o estabelecimento das valências de paramiloidose nos Centros de Saúde das áreas de maior prevalência da doença a partir de 1979, foi crescendo muito rapidamente o número de doentes e famílias observados no CEP, cujo laboratório é o único em todo o país a fazer a identificação da proteína mutante e do gene da TTR^{Met30}. O volume de informação aumentou também através dos inquéritos locais que acompanharam o rastreio de portadores da TTR^{Met30}.

O CEP contém portanto todas as observações clínicas dos cerca de dois mil indivíduos observados por Neurologia, muitos deles também por Cardiologia, Gastroenterologia, Oftalmologia, Nefrologia, Aconselhamento Genético e até, mais recentemente, por Psiquiatria. Todos os exames laboratoriais feitos a pedido de qualquer uma destas especialidades, incluindo o resultado das biópsias e da pesquisa da TTR^{Met30} no soro, se encontram também em cada processo individual.

Existem ainda, desenhadas à mão, em folhas de papel A4 (às vezes mais de 20!), cerca de 500 genealogias das grandes famílias de todos os indivíduos que frequentaram aquela consulta durante os últimos 50 anos, envolvendo por isso muitos milhares de pessoas.

Apesar da grande variabilidade do registo das observações, quer clínicas, quer no que diz respeito às histórias familiares, e de alguma heterogeneidade inevitável numa recolha feita ao longo de 50 anos e por muitas pessoas diferentes, nunca tive conhecimento de algum foco de outra doença genética com um arquivo tão valioso como o do CEP, pela informação concentrada de que dispõe. Para além disso, o CEP tem procurado ser um espaço de coabitação entre a assistência aos doentes e uma investigação multidisciplinar (clínica, laboratorial e epidemiológica).

2.2.2 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO E DE INCLUSÃO

Desde 1939 e até ao final de Dezembro de 1992 (data limite da recolha de dados para este estudo), estavam registados no CEP cerca de 4000 indivíduos. Esses registos abrangiam doentes, indivíduos em risco, portadores assintomáticos e familiares não-portadores; doentes observados por outros neurologistas, para os quais apenas foi pedida ao CEP a confirmação da presença da mutação; outras amiloidoses; outros diagnósticos.

Foram classificados como doentes os 1224 indivíduos com diagnóstico feito por um neurologista do CEP e que obedeceu aos seguintes critérios: um quadro clínico sugestivo e demonstração da presença da TTR^{Met30} ou detecção de amilóide numa biópsia; na ausência de qualquer confirmação laboratorial do diagnóstico no próprio, a detecção da presença da mutação ou a existência de biópsias com amilóide em familiares do 1° grau serviram também de confirmação do diagnóstico. Em algumas famílias, não havia qualquer confirmação laboratorial (TTR ou amilóide) mas sim várias gerações de afectados com o mesmo tipo de doença, ou seja, uma história clínica e familiar sólida confirmou o diagnóstico. O Quadro 2.1 descreve o tipo de confirmação do diagnóstico nos doentes portugueses.

Quadro 2.1 Confirmação de diagnóstico clínico nos doentes portugueses

Método	Nº de doentes	Percentagem (%)
Biópsia	571	46.6
TTR	267	21.8
Biópsia e TTR	154	12.6
TTR em familiares	190	15.5
Biópsia em familiares	17	1.4
Apenas história familiar	25	2.0
Total	1224	100

2.2.3 DEFINIÇÃO DO INÍCIO DA DOENÇA

A doença tem um início insidioso: algumas das queixas mais frequentes no início são de natureza subjectiva, sem tradução num exame clínico anormal. Por isso o início é difícil de definir.

Nos indivíduos observados pela primeira vez enquanto ainda assintomáticos e que foram posteriormente re-examinados, o início da doença foi referido ao ano em que as queixas coincidiam com um exame neurológico, neurofisiológico ou cardiológico alterado. Quando à data da primeira observação no CEP os doentes já evidenciavam vários anos de evolução, o ano de início foi estimado de acordo com a informação colhida junto do doente e dos familiares que o acompanhavam à consulta, quanto ao aparecimento de sintomas "irreversíveis e inequívocos" da doença.

2.2.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos 12 indivíduos observados no CEP que, apesar de um quadro clínico sugestivo, não tinham qualquer confirmação laboratorial nem história familiar da doença; apesar de observados no CEP, foram excluídos 14 doentes de outras nacionalidades (brasileiros, cubanos, maiorquinos, galegos) que não tinham qualquer ligação às famílias portuguesas e não residiam em Portugal; foram ainda excluídos 30 doentes observados por outros neurologistas ou por outros médicos e para os quais apenas existe no CEP a confirmação do diagnóstico por análise do DNA ou da TTR. Foram também excluídos os indivíduos descritos como doentes por familiares próximos (que foram apenas incluídos para a análise das histórias familiares e para classificar o progenitor transmissor e a sua situação na doença).

2.2.5 A RECOLHA DE DADOS ADICIONAIS PARA ESTE ESTUDO

Quando comecei a trabalhar na PAF, em Abril de 1987, o registo informatizado dos doentes e seus familiares encontrava-se no Centro Regional de Informática do Norte (CRIN). A confidencialidade dos dados e a privacidade dos indivíduos estava assegurada, uma vez que os dados de identificação dos sujeitos (nome, morada, local de residência e de naturalidade, estes codificados) se encontravam num ficheiro separado do ficheiro clínico, no qual cada indivíduo só era identificado pelo número de processo clínico que tinha no CEP e pelo número da história familiar a que pertencia. Era, porém, manifestamente

impossível manter o ficheiro permanentemente actualizado: os processos clínicos e as histórias familiares encontravam-se no CEP e o registo informatizado no CRIN, sendo pois impossível o acesso imediato aos dados, o que se tornava cada vez mais complicado dado que a população registada no CEP vinha então a aumentar muito consideravelmente.

Quando o CEP adquiriu o primeiro PC, em 1988, foi-me pedido pela Drª Paula Coutinho e pelo Dr. Pinho e Costa que discutisse com Jaime Baptista (técnico de informática do CRIN) a possibilidade da transferência dos dados para o CEP, para um ficheiro de dBASEIII, o que fizemos em Julho de 1988. Durante esse Verão, foi feita por Paula Coutinho e pelos internos de Neurologia (com a minha ajuda e de Maria Ramos, na altura secretária do CEP), uma revisão, actualização e validação do ficheiro, sobretudo no que diz respeito à situação na doença, idade de início, modo de início e data de morte. Nessa mesma altura foram também criadas por mim pequenas rotinas (em dBASEIII) para permitirem a introdução de novos processos, bem como a validação dos dados (novos e antigos).

Do ficheiro constavam então 2387 registos. Quatro anos mais tarde, à data do fim da recolha de dados para este estudo, tinha, como foi referido, mais de 4000.

Contudo, este registo tinha um problema de base: dado que, naturalmente, tinha sido pensado sobretudo para estudar e abordar os aspectos clínicos e assistenciais aos doentes e suas famílias, fui confrontada com a impossibilidade de estabelecer qualquer grau de parentesco entre indivíduos pertencentes a uma mesma família, requisito básico para qualquer estudo genético.

Por isso ao longo dos anos, primeiro com Jorge Sequeiros e Luísa Lobato, e mais tarde sobretudo com Teresa Coelho, construí um ficheiro familiar que, ao permitir relacionar entre si os indivíduos que dele fazem parte, alargou substancialmente o âmbito dos estudos possíveis.

Introduzimos novas variáveis, não previstas no registo original, e estabelecemos critérios para o seu preenchimento, o que só foi possível pela revisão completa das árvores familiares. Desta re-observação das histórias familiares retirámos a origem da família, o sexo do progenitor transmissor, a sua situação na doença, as idades e causas de morte de ambos os progenitores e o mesmo para o avô transmissor.

A partir daí foi possível estudar, pela primeira vez, o efeito do sexo do progenitor transmissor na idade de início e a antecipação da idade de início.

Revimos também todas as fratrias constituídas por pelo menos dois doentes observados e construímos pares observados de progenitores-filhos o que permitiu o estudo de correlações familiares.

De notar que a recolha de dados adicionais permitiu ainda rever os critérios de inclusão em relação a alguns indivíduos.

2.3 A RECOLHA DE DADOS NA SUÉCIA

2.3.1 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE SUJEITOS E DE CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO

Na Suécia (onde passei, no total, sete meses) não existe nenhum equivalente do CEP ou seja, não existia nenhuma estrutura responsável pelo seguimento dos doentes e das famílias. Rune Andersson, ao diagnosticar os primeiros casos em 1965 e procurar observar os seus familiares, fez um trabalho pioneiro sobre uma doença que era previamente desconhecida na Suécia, mesmo entre a população local. A esses doentes tinham sido atribuídos outros diagnósticos como esclerose lateral amiotrófica, distrofia muscular, siringomielia, etc. Nos anos seguintes à publicação da sua tese de doutoramento (1976), Rune Andersson foi viver para Örnsköldsvik e esse precioso trabalho de observação de doentes e de indivíduos em risco, bem como o estabelecimento das genealogias, foi de

certo modo interrompido. É claro que a PAF continuou a ser diagnosticada e os doentes acompanhados, mas a própria investigação sofreu, ao longo dos anos, vários sobressaltos e descontinuidades que contribuiram para que a informação se encontre hoje muito dispersa. Os processos clínicos dos doentes de PAF não se encontram centralizados, mas sim dispersos pelos hospitais regionais do norte da Suécia (Skellefteå, Piteå, Luleå, Boden, Kalix ou Lyckesele) ou nos vários serviços (Neurologia, Genética Clínica, Medicina Interna) do hospital universitário de Umeå. Um esforço de coordenação de dados só voltaria a ser feito mais tarde, a partir de 1987, no Serviço de Genética Clínica de Umeå. Para essa coordenação contribuiu certamente a criação da FAMY ("Organização sueca de doentes em luta contra a Paramiloidose") em 1985, em Skellefteå, ao propiciar uma maior divulgação da doença o que permitiu alargar o nosso conhecimento dos doentes e famílias.

Quando parti para a Suécia em Junho de 1990, contava que os dados que mais me interessavam não estivessem ainda recolhidos, mas não tinha a noção de que não existisse ainda um registo de doentes.

Gösta Holmgren, responsável do departamento de Genética Clínica do Hospital Universitário de Umeå, tinha reunido num ficheiro os dados referentes aos doentes por ele observados na Consulta de Aconselhamento Genético, os 60 doentes incluídos na tese de doutoramento de Rune Andersson e também de alguns dos doentes observados por Ola Sandgren (oftalmologista).

Para além disso, havia uma lista resultante de uma pesquisa feita no Departamento de Patologia do Hospital de Umeå e que continha alguma informação (nome, data de nascimento, local de residência, hospital que requisitou a biópsia) sobre os indivíduos que tinham feito uma biópsia, entre 1976 e 1990, que assinalou a presença de amilóide, e em relação aos quais havia suspeita de "polineuropatia amiloidótica". Essa lista necessitava da confirmação do diagnóstico através de uma revisão dos processos clínicos. Por isso foi por mim elaborada uma folha individual para registo dos dados clínicos, laboratoriais, demográficos e familiares.

Durante o verão e uma parte do outono de 1990, Gösta Holmgren, Ola Sandgren e Bela Almay, em Umeå, Lars Wikström e Swante Allgulander, em Skellefteå, e Kenneth Lång, em Piteå, reavaliaram esses processos clínicos para confirmação do diagnóstico de PAF e estabelecimento do ano e modo de início. Essa tarefa foi particularmente difícil nos casos em que os primeiros sintomas sugestivos da doença tinham sido registados numa época em que a PAF não era ainda conhecida na Suécia.

A informação familiar contida nos processos clínicos era muito variável, mas, em geral, muito pobre. Apesar disso, apontamentos como "um primo materno tem a mesma doença" foram por vezes indícios suficientes para, através do estudo genealógico, encontrar ligações entre doentes, estabelecer pequenas famílias ou ligá-los a famílias já identificadas.

2.3.2 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO E INCLUSÃO

Foram incluídos neste estudo 239 doentes cujo diagnóstico obedecia aos seguintes critérios: quadro clínico sugestivo, confirmação da mutação (por análise de ADN) ou presença de amilóide numa biópsia (pele, recto, nervo ou corpo vítreo); na ausência de qualquer exame laboratorial no próprio, o facto da doença já ter sido confirmada por biópsia em familiares do 1° grau confirmou também o diagnóstico.

Estes doentes, que obedeciam aos critérios estabelecidos por Andersson[1], puderam ser divididos em três grupos quanto ao grau de confiança no diagnóstico:

1) doentes diagnosticados ante-mortem (225);

2) doentes não diagnosticados clinicamente em vida (7), mas cujos processos clínicos e biópsia ou material de autópsia foram mais tarde reavaliados;

3) doentes conhecidos por história (7), que morreram antes da PAF ser conhecida como entidade clínica separada, mas que eram familiares em primeiro grau de doentes pertencentes ao primeiro grupo e que os descreveram como tendo tido PAF (em cinco

destes casos, foi possível encontrar e rever os processos clínicos). O Quadro 2.2 descreve o tipo de confirmação do diagnóstico nos doentes diagnosticados em vida.

Quadro 2.2 Confirmação de diagnóstico clínico nos doentes suecos

Método	Nº de doentes	Percentagem (%)
Biópsia	144	64.0
ADN	22	9.8
Biópsia e ADN	56	24.9
Apenas história familiar	3	1.3
Total	225	100

2.3.3 SUJEITOS EXCLUÍDOS DESTE ESTUDO

Valerá a pena referir aqui os indivíduos (48) que não chegaram a ser incluídos neste estudo, apesar de fazerem parte da lista inicial de possíveis doentes de PAF, na medida em que essa descrição poderá testemunhar algumas das dificuldades que este estudo atravessou.

As razões dessa exclusão foram de ordem diversa:

a) quatro casos eram afinal amiloidoses secundárias;

b) em 31 sujeitos, não foi possível, à data da recolha de dados, obter uma confirmação de diagnóstico (devido aos dados clínicos serem incompletos ou duvidosos), apesar de alguns pertencerem a famílias de PAF já identificadas;

c) cinco sujeitos tinham diagnóstico provável de PAF (dois dos quais com biópsia), mas o estudo do ADN não demonstrou que eles fossem portadores da TTR^{Met30} (até à data não sabemos se se tratava de outras mutações patogénicas ou se o diagnóstico de PAF era incorrecto);

d) três doentes, todos eles com confirmação da presença da mutação, não eram de origem sueca (um era português, uma maiorquina e uma finlandesa);

e) cinco sujeitos tinham confirmação da presença da mutação, mas a informação clínica e familiar não chegou a tempo de os incluir neste estudo.

2.3.4 O QUESTIONÁRIO FAMILIAR

Em simultâneo com a fase de confirmação do diagnóstico, e com a ajuda inestimável de Lars Lindegren (fundador e primeiro presidente da FAMY), elaborei um questionário individual e familiar que continha perguntas sobre o nome dos progenitores, o seu local (freguesia/paróquia) e data de nascimento, e as datas de morte e de início da doença dos progenitores, tios maternos e paternos, irmãos e filhos do próprio. Esse questionário (em ANEXO) foi enviado pela FAMY aos seus 73 membros em Junho de 1990. Era acompanhado por uma carta, escrita por Gösta Holmgren e por mim, explicando os objectivos desse inquérito e assegurando a confidencialidade no tratamento da informação. Recebi 65 respostas (uma taxa de retorno de 89%); em relação a alguns dos que não responderam, parte da informação relevante (por exemplo, datas de morte dos progenitores) pôde mesmo assim ser deduzida a partir das respostas de irmãos.

Os dados colhidos por este questionário foram preciosos. Além de terem permitido detectar alguns novos doentes, cujos processos clínicos foram subsequentemente procurados e reavaliados, foram de uma grande utilidade no estabelecimento de ligações familiares directas (irmãos ou primos direitos) entre doentes já com diagnóstico confirmado, com destaque para alguns casos supostamente isolados até essa altura. Foi possível assim completar algumas das árvores familiares já conhecidas e estabelecer de forma muito sólida várias outras. O uso do questionário permitiu ainda, em vários casos, estabelecer qual tinha sido o progenitor transmissor, se este tinha sido ou não afectado e a sua idade e causa de morte.

Também através destas respostas me apercebi de um fenómeno que já conhecia nas famílias de doentes portugueses e que parece ser comum em famílias atingidas por afecções de hereditariedade dominante em geral: a negação da doença e a sua ocultação

perante outros membros da família (vários doentes descreviam como não-afectado um irmão que nós já conhecíamos como doente com diagnóstico confirmado).

2.3.5 A DETERMINAÇÃO DA DATA DE MORTE (CERTIDÕES DE ÓBITO E REGISTO DAS FINANÇAS)

Alguns doentes tinham morrido no hospital, e o arquivo das certidões de óbito tinha, evidentemente, a data e a causa de morte. Em relação a outros, o questionário familiar permitiu conhecer datas e causas de morte de progenitores ou de irmãos dos doentes entrevistados. Mas havia ainda problemas em relação a alguns doentes que não foram abrangidos pelo questionário da FAMY (porque não eram familiares de membros desta associação), pois não sabíamos se ainda estavam vivos ou qual teria sido a sua causa de morte. Para além de estudar a idade de morte e a duração da doença, era indispensável conhecer a data de morte para poder estudar as taxas de prevalência (que contabilizam apenas indivíduos vivos).

Uma tarde de Julho, Gösta Holmgren teve uma ideia brilhante: como na Suécia só os mortos é que deixam de pagar impostos, depois de pedida a respectiva autorização, fomos consultar o registo das Finanças, e, em poucas horas, completámos a nossa informação sobre a data de morte ou certificámo-nos de que ainda estavam vivos ... e "colectáveis".

2.3.6 OS ARQUIVOS HISTÓRICOS E A GENEALOGIA

A Suécia dispõe de um sistema de registo populacional praticamente único no Mundo. Já em 1686 havia uma lei que responsabilizava os padres pelo registo dos seus paroquianos, com o objectivo de manter um registo da aprendizagem da religião e de promover a alfabetização. Assim, existe desde 1749 um recenseamento completo da população (sueca e finlandesa), a cargo dos padres que, em cada paróquia, registam numa ficha individual os dados relativos aos acontecimentos mais importantes da vida de cada cidadão: nome dos progenitores e sua data e local de nascimento, data e local de nasci-

mento do próprio, datas do crisma e casamento, datas de nascimento e nome dos filhos, e data e causa de morte. Esses registos paroquiais contêm também notas sobre a capacidade de aprender a ler, aprender a catequese ou sobre o comportamento social dos indivíduos. Além disso, existem ainda quadros com dados de censos, por exemplo com a distribuição das causas de morte numa dada paróquia ao longo de um mesmo ano civil.

Por razões de protecção da informação sobre indivíduos ainda vivos, apenas os registos paroquiais relativos a pessoas nascidas até 1910 se encontram disponíveis nos Arquivos Históricos (Forskningsarkivet) da Biblioteca da Universidade de Umeå sob a forma de micro-fichas. A informação individual mais recente encontra-se exclusivamente nas paróquias onde os indivíduos nasceram (ou onde vivem).

Além disso, o Departamento de Demografia da Universidade de Umeå criou uma base de dados (disponível em disco óptico nos Arquivos Históricos), que diz respeito a toda a população da área de Skellefteå (a zona de maior prevalência da PAF na Suécia) nascida até 1895. Através desse CD-ROM é possível ter acesso a todos os antepassados de um probando, até 8 gerações atrás. Um registo populacional com estas características permite estabelecer graus de parentesco entre indivíduos nascidos no século XVII e outros que vivem ou viveram neste século. No caso de uma doença hereditária como a PAF, permite portanto encontrar antepassados comuns dos doentes conhecidos e estabelecer ligações familiares entre indivíduos ou famílias que desconheciam completamente qualquer grau de parentesco.

Apenas por curiosidade, consultei e usei os micro-filmes (escritos à mão e em sueco). Foi Ulf Drugge (sociólogo ligado à investigação histórica e genealógica das doenças genéticas), que usou esses registos (os manuais e o disco óptico) para estabelecer os grandes pedigrees, conforme já foi descrito[2].

Usei, contudo, o disco óptico, para investigar algumas ligações familiares entre doentes da área de Skellefteå e para obter dados (datas de nascimento e datas e causas de morte) relativos aos antepassados dos doentes do pedigree SK1 (ver figura 4.4). Mais à frente

(cap. 7) discutirei algumas das possibilidades de futuro uso de um registo deste género para estabelecer grupos de controlo que possam permitir comparações entre o grupo de doentes e a população geral.

2.4 Alguns comentários sobre os critérios de inclusão em Portugal e na Suécia

Não posso deixar de discutir aqui as diferenças metodológicas da recolha de dados em Portugal e na Suécia, e as suas implicações. Este estudo inclui, como vimos, os 1224 doentes diagnosticados no Hospital de Santo António e no CEP entre 1939 e 1992, e os 239 doentes diagnosticados nos vários hospitais do norte da Suécia entre 1965 e 1990.

Quanto aos doentes observados no CEP, o diagnóstico repousou sempre na clínica e é, quanto a mim, bastante seguro, dado que tem sido feito por neurologistas treinados e com experiência da PAF, tendo uma relativa homogeneidade no tempo. Foi para manter esta homogeneidade de critérios de diagnóstico e de estabelecimento da idade de início, que só incluí neste estudo os doentes observados no CEP, tendo excluído doentes descritos ou mesmo observados por neurologistas de outras áreas.

Outra componente importante do diagnóstico tem sido a pertença a uma história familiar conhecida, o que nos fez incluir doentes de famílias em que não há confirmação da mutação nem qualquer biópsia, mas há vários casos observados no CEP e vários outros descritos.

Ao longo do tempo, tem havido sempre a preocupação do seguimento das famílias com PAF, procurando-se examinar o maior número possível dos seus membros, afectados ou em risco. Apesar disso, há muitas famílias nas quais apenas uma parte dos indivíduos afectados foi examinada no CEP, quer por recusa dos próprios, quer por dispersão geográfica.

Quanto aos doentes suecos aqui incluídos, o seu diagnóstico foi, a maioria das vezes, feito por médicos de especialidades diferentes e não-neurologistas, tendo por isso possivelmente sido diagnosticados de forma mais heterogénea.

O facto do diagnóstico depender, nos doentes suecos, da presença de substância amilóide numa biópsia tem algumas vantagens evidentes: uma vez estabelecido esse critério, não é impossível conseguir atingir o conjunto dos doentes já diagnosticados, através de uma lista de biópsias com confirmação da presença de amilóide. Mas um dos problemas na Suécia pode ser o início muito tardio da doença. Com o início das manifestações a fazer-se, em média, cerca dos 57 anos de idade, o diagnóstico torna-se mais difícil por confusão possível com outras sintomatologias como doença reumática ou sinais de envelhecimento ou por outros quadros clínicos se sobreporem ao da PAF. Nessas idades, a presença de uma biópsia com amilóide pode ser interpretada como uma amiloidose primária, sobretudo na ausência de outros casos semelhantes na família. Algumas das dificuldades no diagnóstico ficaram expressas neste estudo, pela não inclusão de 31 indivíduos suspeitos de PAF, mas cuja informação clínica disponível não foi concludente.

Mas este critério de confirmação do diagnóstico levanta outro tipo de problemas: indivíduos em quem não foi encontrada substância amilóide, mesmo em biópsias repetidas, apesar de manifestarem sinais inequívocos de polineuropatia, nunca seriam incluídos; assim aconteceu no estudo de Andersson, que chamou a atenção para este problema[1]. O mesmo aconteceu nalguns casos diagnosticados no CEP, mas aqui a definição clínica foi sempre um critério mais forte[3]. Recentemente, a confirmação da mutação veio permitir resolver algumas destas situações[4]. Outro problema é que indivíduos sem suspeita de neuropatia amiloidótica, em relação aos quais nunca tivesse sido pedida uma biópsia, nunca poderiam ser incluídos. A confirmar esta afirmação está o facto de, nas respostas ao questionário familiar, alguns doentes dizerem que irmãos seus também teriam (tido) a mesma doença, apesar de nós nunca termos encontrado o seu nome na lista das biópsias com amilóide.

Em conclusão, ainda hoje existe alguma controvérsia sobre os critérios que permitem um diagnóstico definitivo da PAF.

Algumas outras razões para na Suécia haver sub-estimativas do número real de doentes são: por um lado, o conhecimento relativamente recente da doença, que se supunha no início muito confinada à zona de Skellefteå; por outro lado, o início muito tardio, que faz com que doentes possam ter morrido com outros diagnósticos, ou que portadores do gene morram de outras causas antes de adoecerem ou serem diagnosticados. A estas dificuldades se adiciona o facto de não ter havido um acompanhamento sistemático das famílias. Exemplo disso são algumas das famílias descritas por Andersson, em que não são conhecidos mais doentes que os já descritos em 1976. Casos isolados em famílias pequenas ou famílias em que os afectados já não vivam no norte da Suécia facilmente terão sido perdidos para o *follow-up*.

2.5 ANÁLISE DE DADOS E GRÁFICOS

Os ficheiros com que trabalhámos foram quase exclusivamente de dBASEIII (mais tarde de dBASEIV). Rui Maio teve a gentileza de me ceder uma cópia do programa SDB (escrito e testado por ele), que foi uma ajuda preciosa no dia a dia do *screening* dos dados mais elementares. A análise estatística foi feita com os programas Statgraphics (versão 4.0), Statistica, BMDP e Harvey. Os gráficos foram elaborados com o programa Harvard Graphics.

2.6 BIBLIOGRAFIA

1 Andersson R. Familial Amyloidosis with Polyneuropathy: A Clinical Study Based on Patients Living in Northern Sweden. *Acta med scand* 1976;**Suppl.590**:1-64.

2 Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, Sousa A. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: A pedigree analysis. *J Med Genet* 1993;**30**:388-392.

3 Andrade C. Hereditary amyloid neuropathy. In: Vinken PJ, Bruyn GW, (eds).*Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam and Oxford: North-Holland Publishing Company, 1975:119-143.

4 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**:293-299.

3. EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA PAF EM PORTUGAL: A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, A IDADE DE INÍCIO E A PREVALÊNCIA, COM INCIDÊNCIA PARTICULAR NA ÁREA DA PÓVOA DE VARZIM/VILA DO CONDE

3.1 INTRODUÇÃO

A primeira doente com polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) observada por Corino de Andrade, em 1939, vivia na Póvoa de Varzim. Casos semelhantes foram logo descritos em familiares daquela doente e noutros habitantes da mesma área[1]. Andrade deslocou-se repetidas vezes à zona da Póvoa e Vila do Conde, onde observou regularmente esses e outros doentes. A PAF viria assim a ser definida como uma "nova" afecção.

Na primeira publicação que individualiza a PAF como entidade clínica autónoma, 54 dos 64 doentes mencionados eram oriundos da região da Póvoa de Varzim e Vila do Conde ou dos concelhos adjacentes de Barcelos e Esposende[1].

Algumas descrições subsequentes de doentes provenientes sobretudo de outras zonas geográficas[2-5], ao demonstrarem que a doença não se encontrava confinada apenas à região da Póvoa de Varzim/Vila do Conde (no caso da Serra da Estrela apresentavam mesmo uma outra pequena concentração, em Unhais-da-Serra) tiveram ainda a importância de contribuir para a discussão da possível etiologia da doença.

Vários estudos tentaram discutir a questão da origem da mutação e da sua difusão. Klein foi o primeiro a sugerir a hipótese do acontecimento mutacional ter tido origem na Póvoa de Varzim há cerca de 5 séculos e daí se ter espalhado ao longo do litoral[6]. A descoberta de um foco na Serra da Estrela, sem nenhuma ligação aparente ao da Póvoa de Varzim, fez Becker levantar a hipótese de que, em tempos idos, os doentes da zona da Figueira da Foz, muito possivelmente de origem Poveira, tivessem procurado as termas de Unhais da Serra para tratamento ou alívio[5]. Vários outros estudos[7-10] retomaram a problemática da origem e difusão da mutação a partir da Póvoa de Varzim, quer pela confirmação da grande concentração de doentes naquela área, quer por ser frequente que doentes diagnosticados noutras áreas tivessem antepassados descritos com essa origem.

O estudo de Becker[5] é, sem dúvida, o que apresenta argumentos mais sólidos quanto à hipótese de um acontecimento mutacional único comum a todos os casos portugueses e quanto à origem do gene mutante. Os pescadores da Póvoa de Varzim (Poveiros) viveram até há bem pouco tempo como uma comunidade fechada e isolada das pessoas "da terra", apenas casando dentro do próprio grupo ou com indivíduos de outras comunidades piscatórias com eles relacionadas[11]. Segundo Becker, o gene teria tido origem nesta população com um reduzido número de habitantes até há cerca de cento e cinquenta anos. O aumento geral dessa pequena população teria portanto sido acompanhado por um aumento significativo de portadores do gene mutante da PAF, devido a um efeito de deriva genética, que terá superado as perdas por selecção.

Por outro lado, ao discutir a problemática dos casos "isolados" e ao concluir, de uma forma muito original para a época, que eles provavelmente não representam novos acontecimentos mutacionais mas sim a ausência de expressão do gene nos seus

antecessores, Becker estava também a afirmar que a taxa de mutação do gene da PAF deveria ser extremamente baixa e que, portanto, fará sentido pensar numa possível ligação entre diferentes focos de expressão da doença ou entre famílias com origem geográfica aparentemente muito diferente. O que conhecemos hoje dos estudos de haplótipos da genética molecular aponta, de facto, no sentido de um acontecimento mutacional único comum a todos os casos portugueses[12]. Sou de opinião que, para tratar esta problemática, têm feito falta não só outras abordagens do tipo genealógico/histórico, mas também na área da epidemiologia geográfica ou da epidemiologia genética.

O presente estudo não procurou respostas a esta questão, até porque, à excepção do questionário familiar (usado apenas na fase final deste trabalho), "apenas" tratei os dados já existentes no CEP. Limitei-me por isso a organizar, sistematizar e analisar, com critérios estabelecidos por mim, a informação disponível, para mais tarde se estender este tipo de trabalho a uma pesquisa em registos civis, paroquiais, históricos ou outros.

Tornou-se claro para mim que a informação era variável e que havia regiões em que o conhecimento da doença era relativamente precário. Por isso, embora numa primeira parte deste capítulo se dê conta, ainda que de forma resumida, da distribuição geral dos doentes e das famílias, fiz um tratamento mais aprofundado em termos de epidemiologia genética e de fertilidade (esta tratada no último capítulo) apenas sobre a zona da Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Não só por ser esta a área em que o nosso conhecimento da extensão da PAF parece ser mais próximo da realidade (*ascertainment* quase completo), como também porque seria impensável, no âmbito deste trabalho, fazer o mesmo para todas as outras regiões. Além disso, esta escolha justificava-se pelo facto do paradigma da PAF nos doentes portugueses ter sido fundamentalmente construído à volta das características dos doentes desta área.

Neste estudo, considerei que a Póvoa e Vila do Conde eram uma mesma área geográfica no que diz respeito à genética da PAF. Na verdade, não só as freguesias com maior prevalência da PAF, como as Caxinas, se situam no limite entre dois concelhos, como já pertenceram alternadamente a um ou outro em momentos diferentes da História; além

disso, no que diz respeito à própria doença, as famílias cruzam-se e vivem parte num concelho, parte no outro.

De qualquer modo, numa análise sumária dos dados globais, procurei descrever a distribuição geográfica dos doentes em termos do concelho de origem e do seu local de residência, discutindo possíveis padrões de migração e mobilidade e as suas consequências.

Tentei ainda comparar a distribuição geográfica que hoje conhecemos com a descrita em estudos anteriores[8,9,13,14,] e averiguar se haverá porventura novas áreas de proveniência de doentes.

Um estudo de epidemiologia genética sobre a Póvoa/Vila do Conde justifica-se tanto pela importância da concentração de doentes como por uma re-avaliação do paradigma da PAF, mais de 40 anos após a primeira descrição e quando se conhece já uma variabilidade muito superior à inicialmente descrita[15].

3.2 SUJEITOS

A amostra para o presente estudo é constituída pelos 1224 doentes (687 homens, 537 mulheres) registados no CEP, pertencentes a 484 árvores familiares distintas; 1094 doentes pertenciam a 384 famílias em que foi possível comprovar a presença da TTR^{Met30} em pelo menos um dos seus membros. Dos 1224 doentes, 330 viviam na região da Póvoa de Varzim/Vila do Conde. Os critérios de diagnóstico e de inclusão foram descritos no capítulo anterior.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 DEFINIÇÃO DA ORIGEM DA FAMÍLIA

A origem de cada família foi definida como o concelho de nascimento do antepassado mais remoto descrito como afectado ou identificado como transmissor (pela história familiar ou pela comprovação da TTR^{Met30}). No caso de doentes em que a doença não era conhecida nas gerações anteriores, a origem foi definida ou como o concelho de nascimento do próprio, ou de ambos os progenitores, se coincidente. Quando nenhum dos progenitores era afectado, mas a doença estava descrita noutros familiares de um deles, este era definido como transmissor. Mais à frente discutiremos alguns problemas relacionados com estas definições.

3.3.2 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

O teste t de Student foi usado para comparar as médias de idade de início, idade de morte, idade à data do diagnóstico, duração e demora do diagnóstico em duas amostras (sexo ou ano de censo). Na análise de dados truncados, para estimar a curva de sobrevivência, utilizou-se a informação sobre todos os sujeitos para os quais se conhecia a data de morte ou a data da última observação no CEP, pois sabia-se que, pelo menos àquela data, o doente ainda estava vivo (observações truncadas ou incompletas). O método de Kaplan-Meier[16] foi usado para estimar a curva de sobrevivência (tempo após o início da doença). As curvas de sobrevivência dos homens e das mulheres doentes foram comparadas usando o teste de log-rank[17].

3.3.3 DADOS DEMOGRÁFICOS

Usei os dados demográficos resultantes dos Recenseamentos da População Portuguesa de 1981[18] e 1991[19] para estudar a estrutura etária da população da Póvoa de

Varzim/Vila do Conde e as suas modificações entre os anos de Censo, bem como para estimar taxas de prevalência e frequência de portadores do gene.

A população residente no conjunto dos dois concelhos aumentou de 96460 em 1970 para 118650 em 1981, e para 119624 em 1991. A sua estrutura etária variou consideravelmente, tendo-se assistido a uma baixa na taxa de natalidade e um aumento dos grupos etários mais idosos: em 1991, apenas 23% da população tinha menos de 15 anos (contra 35.5% em 1970) e 9.2% tinha 65 anos ou mais (6.9% em 1970). A estrutura etária da população, globalmente e por sexos, era muito semelhante nos dois concelhos (Póvoa de Varzim e Vila do Conde), tanto em 1981 como em 1991.

3.3.4 ESTIMATIVAS DAS TAXAS DE PREVALÊNCIA

As taxas de prevalência para a região da Póvoa de Varzim/Vila do Conde foram calculadas para os dois últimos anos de recenseamento da população portuguesa (1981 e 1991).

Para cada um desses anos, calcularam-se dois tipos de estimativas: na primeira, incluiu-se toda a população da área em estudo; na segunda, considerou-se apenas a população com mais de 19 anos, ou seja, restringiu-se o cálculo à população em que, na região da Póvoa/Vila do Conde, seria possível detectar a doença (dado que não há nenhum caso nessa zona com início abaixo dos 19 anos de idade).

Em qualquer das estimativas, foram incluídos todos os indivíduos vivos afectados, independentemente do ano em que foram diagnosticados. Esta inclusão foi feita retrospectivamente, já em 1993, usando o nosso conhecimento do ano de início, do ano de diagnóstico e do ano de morte ou da última observação. Nos casos em que a última observação era anterior ao ano de Censo e não havia informação precisa sobre se estava ou não vivo, o doente não foi incluído nos cálculos.

3.3.5 ESTIMATIVA DA FREQUÊNCIA DE PORTADORES DO GENE

O número de portadores do gene, calculado para 1991, foi estimado usando o método indirecto desenvolvido por Reed e Chandler para o seu estudo da doença de Huntington[20]. A sua fórmula geral é

$$f = \frac{D}{\sum_x N_x P_x}$$

onde f é a frequência de heterozigotos, D representa o número de doentes vivos, P_x é a proporção de doentes que já manifestaram sintomas à idade x e N_x é o número de indivíduos da população geral com idade x. Os valores de P_x foram calculados a partir da distribuição cumulativa da idade de início para as diferentes áreas e os valores de N_x foram obtidos dos dados demográficos gerais dos Censos[18,19], usando grupos de 5 anos.

3.4 RESULTADOS GERAIS

3.4.1 ANOS DE NASCIMENTO

Os anos de nascimento dos 1224 doentes encontram-se descritos no Quadro 3.1. Uma vez que a PAF só foi reconhecida como entidade clínica a partir de 1939 e descrita em 1952, é facilmente explicável que doentes nascidos em décadas mais remotas estejam sub-representados, por terem morrido sem terem sido diagnosticados. O escasso número de doentes nascido depois de 1960 deve-se ao facto da maior parte dos portadores nascidos nesse período (que teriam em 1992 entre 23 e 32 anos) serem ainda assintomáticos ou, pelo menos, não terem ainda sido observados no CEP.

Quadro 3.1 Distribuição dos doentes por ano de nascimento e sexo

	Sexo			
Ano de nascimento	Homens	Mulheres	Total	Razão
1887-1920	65	47	112	1.4
1920-1929	87	59	146	1.5
1930-1939	129	115	244	1.1
1940-1949	167	176	343	0.9
1950-1959	191	126	317	1.5
1960-1969	48	14	62	3.4
Total	687	537	1224	1.3

3.4.2 A PROPORÇÃO DE HOMENS E MULHERES

No conjunto total dos doentes havia mais homens que mulheres e a razão homem:mulher é semelhante ao longo dos vários períodos de tempo considerados. Há, contudo, duas excepções notórias. Em relação aos doentes nascidos depois de 1960, o baixíssimo número de mulheres deve-se ao facto das portadoras femininas não fazerem ainda parte desta amostra por adoecerem mais tarde do que os homens. Curiosamente, foi encontrada uma inversão na razão homem:mulher entre os doentes nascidos na década de 1940-1949; uma explicação possível para o menor número de homens (embora não se possa saber até que ponto é importante) poderá ser a forte emigração de indivíduos jovens que se deu nos anos 1960-70 e eventualmente as mortes ocorridas na guerra colonial, ambas podendo abranger precisamente os homens nascidos naquela década.

3.4.3 A IDADE DE INÍCIO

A idade de início geral (conhecida em 1208 dos 1224 doentes) variava entre 17 e 78 anos, com uma média de 33.5 e um d.p. de 9.5 anos; 81% dos doentes iniciavam a manifestação de sintomas antes dos 40 anos de idade e 92% antes dos 50 anos. A média de idade de início era significativamente mais elevada nas mulheres (35.6 anos, d.p. 9.0) do que nos homens (31.9 anos, d.p. 9.6): $t_{1206}= 6.83$, $P<0.001$.

3.4.4 A ORIGEM E A RESIDÊNCIA

A Figura 3.1 descreve os doentes por concelho de origem da família e por local de residência à data do diagnóstico. Como já verificado em estudos anteriores[8,9,13,14], há uma grande concentração junto ao litoral norte (Póvoa, Vila do Conde, Esposende, Matosinhos, Porto), Barcelos e Braga, Figueira da Foz e um núcleo na Serra da Estrela. Contudo, em termos de concelho de residência, nota-se claramente uma maior dispersão, sobretudo no centro do país e também em direcção ao sul. Essa dispersão parece também ser superior à que tinha sido encontrada naqueles estudos.

Ao analisarmos o Quadro 3.2, que descreve os nove principais concelhos em termos de origem de famílias e origem e residência de doentes, verificamos que há concelhos como o de Matosinhos, que é principalmente local de residência de doentes com origem noutros concelhos, enquanto que, por exemplo, Esposende e a Covilhã são concelhos de origem mais do que de residência. Mas o que se destaca deste quadro é a importância do concelho da Póvoa de Varzim onde não só vivem cerca de um sexto dos doentes até hoje conhecidos em Portugal, como também dali são originários 27% dos doentes. Ou seja, dos 1224 doentes registados no CEP até Dezembro de 1992, 424 (35%) pertenciam a 140 famílias com origem na Póvoa (99 famílias, 330 doentes) ou em Vila do Conde (41 famílias, 94 doentes), o que justifica plenamente um tratamento mais detalhado daquela região.

Quadro 3.2 Importância relativa de alguns concelhos em termos de origem de famílias e origem ou residência de doentes

Concelho	Origem (nº de famílias)	Origem (nº de doentes)	Residência (nº de doentes)
Póvoa de Varzim	99	330	204
Vila do Conde	41	94	126
Barcelos	52	165	118
Figueira da Foz	34	84	63
Braga	29	94	77
Porto	26	59	121
Esposende	26	77	51
Covilhã	20	42	18
Matosinhos	10	19	86

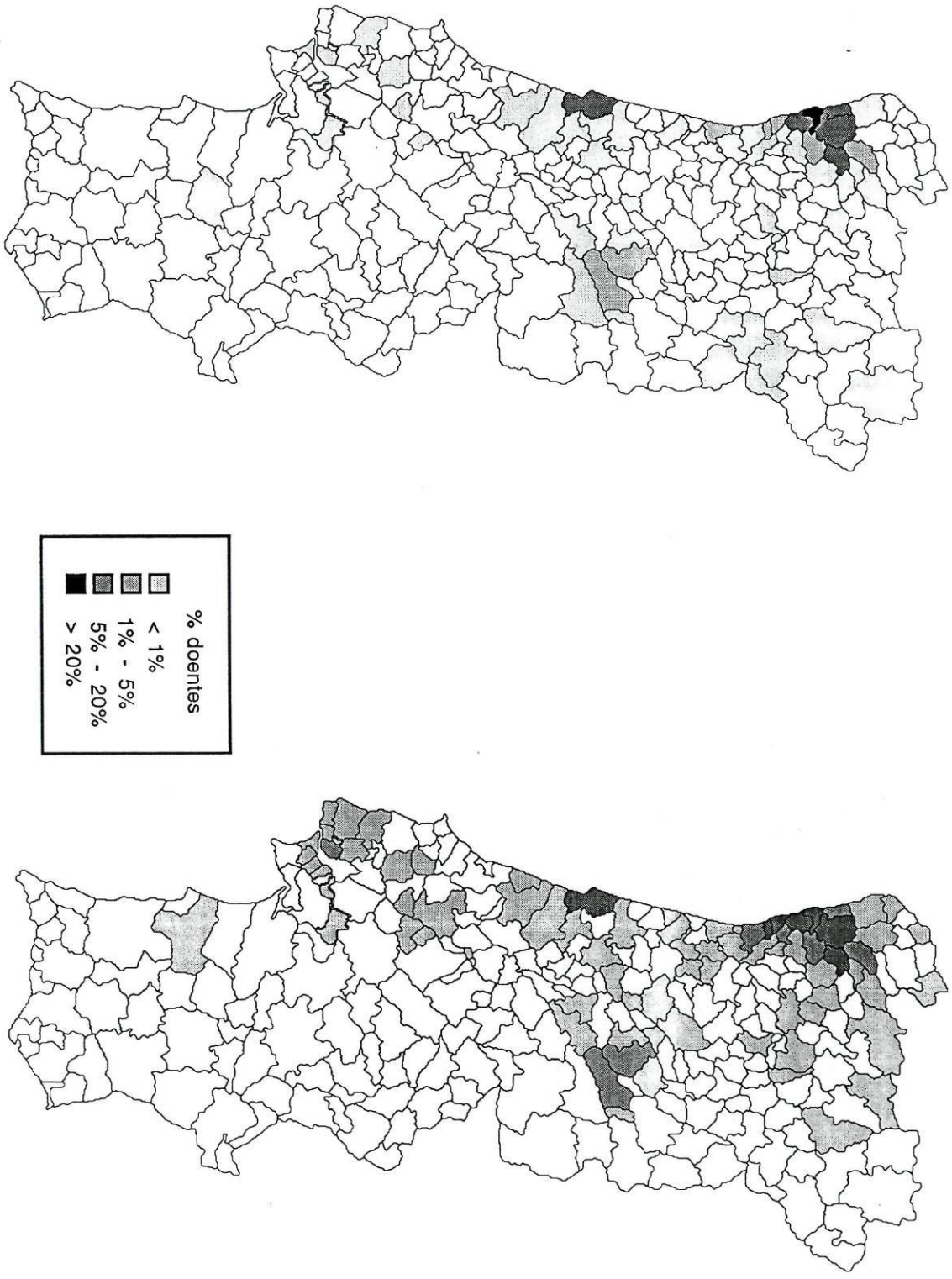


Figura 3.1 Distribuição dos doentes portugueses por concelho de origem (à esquerda) e concelho de residência à data do diagnóstico (à direita)

Julgo ser aqui necessário um comentário que diz respeito ao facto de só terem sido incluídos neste estudo os doentes de PAF observados no CEP. Apesar de este ser um centro de referência nacional, há necessariamente um melhor conhecimento da doença na sua área de influência. Por isso, os resultados aqui apresentados não querem dizer que haja poucos doentes de PAF por exemplo em Lisboa, mas sim que os observados no CEP são em número relativamente reduzido. E é natural que assim seja, uma vez que em Lisboa, hospitais como o de Santa Maria há muito tempo dispõem de Serviços de Neurologia com tradição de acompanhamento dos doentes de PAF. Contudo, a informação que nos chega sobre doentes ou indivíduos testados residentes em Lisboa ou concelhos limítrofes, faz-nos crer que essa população (relativamente pequena) tem origem fundamentalmente nas Beiras, o que está de acordo com os padrões de migração internos.

3.5 Resultados do estudo específico sobre a região da Póvoa/Vila do Conde

3.5.1 Descrição da amostra

Dos doentes registados no CEP e diagnosticados entre 1939 e 1992, 330 viviam nos concelhos da Póvoa de Varzim ou Vila do Conde à data do diagnóstico e pertenciam a 133 histórias familiares distintas: 183 eram homens e 147 mulheres (1.2:1), uma proporção não-significativamente diferente da amostra global (1.3:1).

3.5.2 Anos de nascimento

A distribuição dos doentes por anos de nascimento encontra-se descrita no Quadro 3.3 e segue um padrão geral de distribuição por sexos semelhante ao que foi encontrado para a amostra global (Quadro 3.1).

Quadro 3.3 Distribuição dos doentes da Póvoa/Vila do Conde por ano de nascimento e sexo

	Sexo			
Ano de nascimento	Homens	Mulheres	Total	Razão
1887-1920	25	15	40	1.7
1920-1929	23	20	43	1.1
1930-1939	32	26	58	1.2
1940-1949	40	55	95	0.7
1950-1959	47	29	76	1.6
1960-1969	16	2	18	8.0
Total	183	147	330	1.2

3.5.3 A ORIGEM E A RESIDÊNCIA

O Quadro 3.4 descreve-nos a distribuição dos doentes em termos de concelho de origem/concelho de residência. É nítida a predominância dos doentes com origem no concelho da Póvoa de Varzim (223/330= 68%), embora cerca de 23% desses doentes residissem em Vila do Conde. Quanto aos 42 doentes originários de outros concelhos, eles eram maioritariamente de Barcelos (26) e residiam sobretudo na Póvoa.

Quadro 3.4 Concelho de origem e concelho de residência

	Concelho de residência		
Concelho de origem	Póvoa de Varzim	Vila do Conde	Total
Póvoa de Varzim	171	52	223
Vila do Conde	5	60	65
Barcelos	18	8	26
Outras Origens	10	6	16
Total	204	126	330

3.5.4 AS FAMÍLIAS E AS SUAS LIGAÇÕES

Os 288 doentes residentes e originários da Póvoa/Vila do Conde agrupavam-se em 111 famílias: 223 pertenciam a 77 famílias da Póvoa e 65 a 34 famílias de Vila do Conde. Constavam ainda do registo do CEP mais 93 doentes pertencentes a estas famílias mas que residiam noutros locais na altura do diagnóstico. Havia ainda 51 doentes (29 famílias)

oriundos desta zona mas em que já nenhum dos seus membros lá vivia na altura do diagnóstico.

Da revisão das 111 árvores familiares constatámos que havia nestas histórias mais 401 doentes descritos pelos familiares como tendo tido PAF mas que nunca foram observados no CEP, quer por pertencerem a gerações mais antigas, quer por dispersão geográfica ou emigração. Conhece-se por isso um total de 689 doentes (observados ou descritos) distribuídos pelas 111 famílias originárias da Póvoa ou Vila do Conde e com pelo menos um doente residente nessa área; estas, por sua vez, compreendem um número variável de gerações, observadas directamente ou apenas descritas (Quadro 3.5).

Quadro 3.5 Número de gerações com descrição da doença

Nº de gerações	Nº de famílias
1	9
2	39
3	37
4	23
5	3
Total	111

3.5.5 A IDADE DE INÍCIO, IDADE À DATA DO DIAGNÓSTICO E INTERVALO ENTRE INÍCIO E DIAGNÓSTICO

O Quadro 3.6 descreve algumas das características clínicas e epidemiológicas deste conjunto de doentes. A idade de início era conhecida em 323 doentes e variava entre os 19 e os 57 anos, enquanto que no conjunto total dos 1224 doentes observados no CEP variava entre os 17 e os 78 anos.

Quadro 3.6 Descrição geral das características dos doentes da Póvoa de Varzim e de Vila do Conde

Variável	n	Amplitude	Perc.25	Mediana	Perc.75	Média	d.p.
Idade de início							
Homens	18	19-57	25	28	31	29.0	6.4
Mulheres	14	23-50	30	33	37	33.7	5.8
Global	32	19-57	26	30	34	31.1	6.7
Idade à data do diagnóstico							
Homens	18	19-62	28	31	35	32.6	7.2
Mulheres	14	26-57	33	37	41	37.6	6.2
Global	32	19-62	29	34	39	34.8	7.2
Demora do diagnóstico							
Homens	18	0-13	1	2	5	3.5	2.9
Mulheres	14	0-16	2	3	5	3.9	3.3
Global	32	0-16	1	3	5	3.8	3.4
Idade de morte							
Homens	11	28-70	35	38	42	39.3	7.1
Mulheres	6	33-58	39	43.5	48	43.3	5.9
Global	17	28-70	36	40	45	40.8	6.9
Duração total							
Homens	11	2-20	8	9	12	10.2	3.4
Mulheres	6	4-26	9	11	13	11.3	4.2
Global	17	2-26	8	10	13	10.6	3.8

A média (31.1) é significativamente mais baixa que no conjunto total dos doentes (33.5 anos); 68% dos doentes iniciava a doença entre os 25 e os 35 anos; 10% (11 homens e 21 mulheres) começaram a doença aos 40 anos ou depois (19% na amostra global); só 3 doentes (0.9%) tinham começado depois dos 50 anos (enquanto que essa percentagem era de 7.4% na amostra global dos 1224 doentes). Ou seja, como veremos adiante, os doentes de início mais tardio parecem ter origem noutras regiões geográficas que não a Póvoa/Vila do Conde. De acordo com os resultados de outros estudos[5,9,21,22], o início era mais tardio nas mulheres (33.7) que nos homens (29.0 anos) ($t_{321} = 6.8$, $P<0.001$).

A distribuição da idade de início pode ser influenciada por um efeito de coorte, ou seja, um indivíduo nascido em 1967, por exemplo, só poderá fazer parte deste estudo se tiver adoecido antes dos 25 anos. Procurei pois determinar que peso teriam nesta amostra as coortes mais recentes, considerando apenas os doentes nascidos até 1952, ou seja, os que poderiam já ter manifestado sintomas até aos 40 anos de idade: a média da idade de início nesta amostra era de 32.0 anos (d.p. 7.0), o que não é significativamente diferente da

amostra global de 323 doentes. Por isso, o início precoce não parece resultar de um efeito de coorte mas sim estar associado às particularidades da expressão da PAF nesta área geográfica.

O intervalo entre o início e o diagnóstico não é significativamente diferente nos homens e nas mulheres (Quadro 3.6). Por isso, as diferenças encontradas entre homens e mulheres doentes quanto à idade de diagnóstico (32.6 e 37.6 respectivamente) parecem ser devidas não a uma demora diferente de diagnóstico, mas sim ao início mais tardio nas mulheres.

3.5.6 A IDADE DE MORTE, A DURAÇÃO TOTAL E A SOBREVIDA

O ano de morte era conhecido em 194 dos 205 doentes que já tinham morrido, e as causas de morte eram semelhantes às encontradas num estudo anterior[23]. Excluíram-se 18 mortes ou por suicídio ou por causas não relacionadas com a história natural da doença (cancro, tuberculose, infecções): em 176 doentes a idade média de morte era 40.8 (d.p. 6.9 anos, mediana 40 e amplitude 28 e 70 anos), o que indica uma redução drástica da esperança média de vida para a maior parte destes doentes, cuja idade de morte é ainda significativamente mais baixa que a encontrada na amostra global (43.9)[23]. As diferenças entre os sexos, 43.3 para as mulheres e 39.3 para os homens (Quadro 3.6), continuavam a ser significativas nesta amostra parcial ($t_{193} = 3.89$, $P<0.001$); enquanto 67% dos doentes do sexo masculino morreram antes dos 40 anos, a proporção equivalente para as mulheres doentes era apenas de 38%. Quanto à duração total, as diferenças entre os sexos (10.2 para os homens e 11.3 para as mulheres) eram apenas marginalmente significativas ($t_{174} = 1.76$, $P<0.05$) e semelhantes às anteriormente encontradas[23]. Quando considerámos os 322 doentes para os quais se conhecia a data da morte ou da última observação (dados truncados), as estimativas de Kaplan-Meier mostraram que as mulheres tendiam a ter uma sobrevivência (mediana 12 anos) superior à dos homens (mediana 11 anos; $P=0.052$ para o teste de log-rank). Parece-me portanto legítimo concluir que as diferenças encontradas

quanto à idade de morte se devem mais às diferenças de idade de início do que a diferentes sobrevidas ou durações.

3.5.7 A AMOSTRA PREVALENTE DE 1991

Dos 330 doentes deste estudo, 108 estavam vivos em 1991. As suas idades variavam entre 22 e 58 anos e o seu tempo de evolução entre 0 e 17 anos. A sua distribuição por grupo etário é apresentada no Quadro 3.7.

Quadro 3.7 Distribuição dos doentes da Póvoa/Vila do Conde vivos em 1991 por grupo etário e sexo

	Sexo		
Grupo Etário	Homens	Mulheres	Total
0-19	0	0	0
20-24	1	0	1
25-29	7	1	8
30-34	16	4	20
35-39	17	15	32
40-44	7	21	28
45-49	0	13	13
50-54	1	3	4
55-59	1	1	2
≥60	0	0	0
Total	50	58	108
Média idade	35.1 ± 6.1	41.8± 5.7	38.7 ±6 .8

Desses 108 doentes, 50 eram homens e 58 mulheres, contrariando a proporção entre os sexos que tem sido encontrada em todos os outros estudos[1,5,9,21,22]. Se analisarmos a distribuição destes doentes por ano de nascimento (Quadro 3.8) apercebemo-nos de que a discrepância enunciada e discutida aquando da descrição da amostra global quanto ao excesso de mulheres nascidas na década de 1940-49 é ainda mais relevante aqui, dado que a maioria dos homens doentes nascidos nessa década, com início mais precoce, não podem fazer parte da amostra prevalente, por já terem morrido.

Quadro 3.8 Distribuição dos doente vivos em 1991 por ano de nascimento e sexo

Ano de nascimento	Sexo		
	Homens	Mulheres	Total
1930-1939	1	2	3
1940-1949	4	29	33
1950-1959	30	26	56
1960-1969	15	1	16
Total	50	58	108

Estes doentes pertenciam a 58 famílias e o número de indivíduos doentes por família (incluídos neste estudo) variava entre um e seis. Devemos interrogar-nos sobre as razões pelas quais as restantes famílias desta zona não têm indivíduos que façam parte da amostra de doentes vivos (e residentes na Póvoa ou Vila do Conde em 1991): algumas foram perdidas para o *follow-up*; noutras, por serem pequenas, o ramo afectado extinguiu-se (os únicos doentes tiveram apenas filhos não-portadores); em algumas outras, os doentes vivos já não residem nesta zona; e noutras ainda, estamos entre duas gerações de doentes, ou seja, já morreram os doentes da última geração afectada e os da seguinte ainda não adoeceram.

3.5.8 AS TAXAS DE PREVALÊNCIA E A FREQUÊNCIA DE HETEROZIGOTOS

Em 1991, a taxa de prevalência para a zona da Póvoa/Vila do Conde (considerada em conjunto) foi de 90.2/100000, ou seja 1:1109 habitantes. Se considerarmos apenas a população com 19 anos ou mais, a prevalência aumenta para 151/100000, ou seja, aproximadamente 1:663 habitantes. Se nos restringirmos agora aos grupos etários dos 30 aos 44 anos (que representam indivíduos em plena vida activa e reprodutora, muitas vezes com filhos pequenos e dependentes), onde encontrámos 80 doentes registados numa população de 25550 habitantes, a prevalência passa a ser 313/100000, ou seja, 1:320 habitantes naquelas idades.

A frequência de portadores (calculada segundo o método de Reed e Chandler) era de 186 x 100000, ou seja, 1:538 habitantes, tendo o número total de portadores na Póvoa/Vila

do Conde sido estimado em 223. Como conhecemos 108 portadores que já manifestaram e já foram diagnosticados, poderemos concluir que em 1991, cerca de 48.4% dos portadores do gene foram já detectados, ou seja, a proporção entre portadores manifestantes e não-manifestantes era de 1:1.1. A diferença entre a estimativa do número total de portadores e o número de doentes deve-se ao facto da doença só ter início (nesta área) depois dos 19 anos de idade e portanto haver, em todos os grupos etários da população, indivíduos portadores que ainda não adoeceram. Curiosamente, quando estes cálculos são feitos separadamente para cada sexo, e apesar de na amostra prevalente de 1991 haver mais mulheres que homens, a estimativa para cada sexo do número de portadores que já manifestaram era de 50% para os homens e 46% para as mulheres, o que se deve à estrutura etária da população geral conforme o sexo e às diferentes distribuições da idade de início nos homens e mulheres doentes. Também estes números confirmam assim hipóteses anteriormente levantadas[5] de uma penetrância mais reduzida para as mulheres, ou seja, de haver mais mulheres do que homens entre os portadores não-manifestantes do gene.

3.5.9 O QUE MUDOU ENTRE 1981 E 1991

O Quadro 3.9 descreve vários parâmetros dos doentes vivos em 1981 ou em 1991: idade, idade de início, idade à data do diagnóstico, demora de diagnóstico, tempo de evolução da doença e estimativas das taxas de prevalência. A primeira observação a notar é que a média da idade de início aumentou, sem dúvida devido a uma melhor detecção dos casos de início tardio nos últimos dez anos. A demora de diagnóstico diminuiu, provavelmente devido a uma melhor detecção de doentes e ao facto de estes procurarem mais cedo os serviços do CEP. A idade à data do diagnóstico manteve-se por isso relativamente constante, pelo efeito combinado da antecipação do diagnóstico com a inclusão de mais casos tardios.

Quadro 3.9 Características dos doentes nos últimos dois anos de Censos (média ± d.p.)

	1981			1991		
	Homens	Mulheres	Total	Homens	Mulheres	Total
Número de doentes vivos	48	44	92	50	58	108
Idade de Início	27.3 ± 4.7	32.7 ± 5.6	29.9 ± 5.8	29.0 ± 5.8	34.2 ± 5.1	31.8 ± 6.0
	[20-51]	[24-48]	[20-51]	[22-51]	[25-50]	[22-51]
Demora de diagnóstico	3.8 ± 3.2	4.4 ± 3.5	4.1 ± 3.4	3.1 ± 2.8	3.17 ± 3.0	3.2 ± 2.9
	[0-13]	[0-15]	[0-15]	[0-11]	[0-15]	[0-15]
Idade à data do diagnóstico	31.1 ± 5.7	37.1 ± 6.0	34.0 ± 6.5	32.1 ± 6.1	37.3 ± 6.0	34.9 ± 6.6
	[23-54]	[26-53]	[23-54]	[23-53]	[28-57]	[23-57]
Idade	32.6 ± 5.9	38.0 ± 5.5	35.2 ± 6.3	35.1 ± 6.1	41.8 ± 5.7	38.7 ± 6.8
	[24-58]	[29-53]	[24-58]	[22-56]	[28-58]	[22-58]
Tempo de evolução	5.4 ± 3.8	5.4 ± 3.9	5.4 ± 3.8	6.1 ± 3.7	7.7 ± 3.8	6.9 ± 3.8
	[0-15]	[0-17]	[0-17]	[0-17]	[0-16]	[0-17]
Prevalência ($\times 10^{-5}$)						
	82	72	77	86	94	90
a)	68	47	57	72	70	71

Nota: Os valores entre parêntesis indicam a amplitude

a) Estimativas calculadas depois de excluir os 23 doentes comuns às duas amostras (isto é, vivos em 1981 e em 1991)

Contudo, é importante salientar que estas duas amostras prevalentes não são independentes, uma vez que havia 23 doentes vivos tanto em 1981 como em 1991 (fazendo portanto parte das duas amostras), o que obviamente se reflecte no cálculo da média da idade e do tempo de evolução em 1991 (Quadro 3.9). A maior prevalência encontrada em 1991 nas mulheres deve-se à inclusão desses doentes comuns (15 mulheres e apenas 8 homens). Excluindo estes 23 doentes de ambas as amostras, observa-se mesmo assim um aumento de 25% nas taxas de prevalência entre 1981 e 1991, o que poderá em parte ser explicado pela média de novos casos por ano ser de 9.3 na década de 1981 a 1991, enquanto era de 8.4 na década 1971-1981. O desvio para a direita (entre 1981 e 1991) das taxas de prevalência por grupo etário (Figura 3.2) mantinha-se mesmo depois de excluir os 23 doentes comuns, indicando assim que esta mudança se deve sobretudo ao início mais tardio dos doentes vivos em 1991.

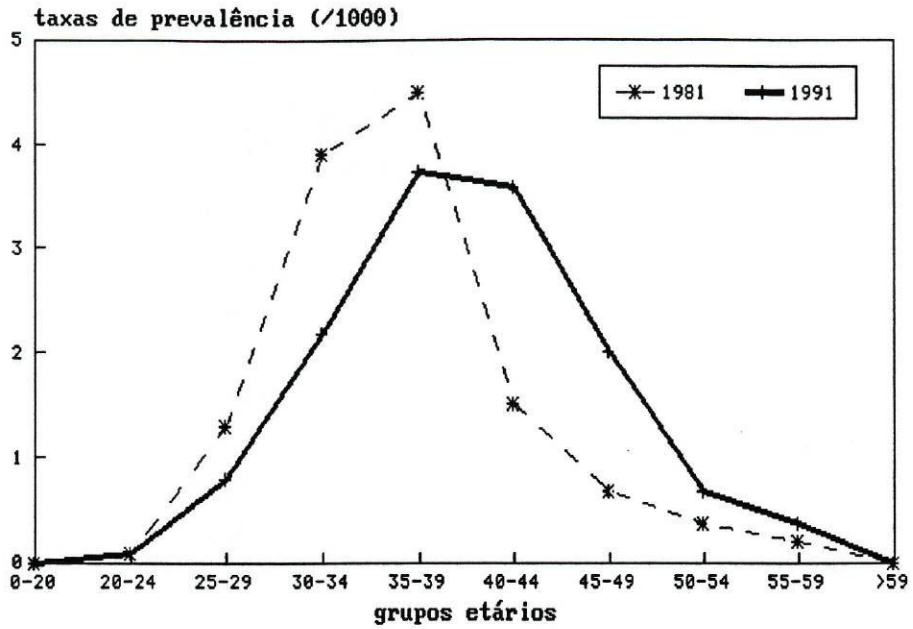


Figura 3.2 Evolução das taxas de prevalência por grupo etário entre 1981 e 1991

3.6 DISCUSSÃO

3.6.1 A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS FAMÍLIAS E A ORIGEM DA MUTAÇÃO

Os dados que analisei neste estudo, apesar de não demonstrarem por si a hipótese de um acontecimento mutacional único comum a todos os casos portugueses, reforçam a hipótese de que a mutação possa ter tido origem na Póvoa do Varzim, ao documentar a grande percentagem de doentes em cujas famílias é referenciada uma origem na Póvoa, mesmo nos casos em que já nenhum membro lá reside actualmente.

Quanto à distribuição geográfica dos doentes e das famílias que hoje se conhece, há uma maior dispersão sobretudo em termos de concelhos de residência dos doentes, havendo "novos" concelhos de residência ou de origem que não faziam parte das descrições anteriores[8,9,13,14].

Mas, no que diz respeito à questão da origem da família, há alguns comentários a fazer. Há evidentemente um carácter precário e transitório na definição da origem da família. Transitório, porque informações posteriores sobre essa família podem vir a alterar a classificação da sua origem. Na verdade, bastará ligar duas famílias que julgávamos independentes entre si para que o concelho de origem venha imediatamente a sofrer alterações. Precário porque ela depende da informação fornecida pelos próprios doentes e do melhor ou pior conhecimento que cada doente tem da sua própria família, sendo frequente que já pouco saibam dos avós. O que quer dizer que, por deficiência da informação, muitas vezes o concelho de origem de uma dada família é apenas o concelho de residência da geração anterior. Mas esta classificação depende ainda da profundidade e do rigor com que a origem da família é inquirida pelos próprios médicos ou pessoal do CEP: nesse aspecto, o uso de um questionário familiar é um instrumento precioso pois, não podendo colmatar a falta de conhecimento que os doentes possam ter acerca da sua própria família, tem pelo menos a vantagem de uniformizar as perguntas e estabelecer a história familiar de forma menos dependente de quem recolhe a informação.

Na realidade, a informação que existe no CEP sobre cada família é muito variável, não apenas por ter sido obtida em alturas diferentes e por pessoas diferentes, mas também porque nunca foi uniformizada e sistematizada.

Ao longo destes anos, a ligação entre histórias familiares aparentemente desconexas começou por ser feita por intuição, pelas pessoas que trabalhavam no CEP e que mais lidavam com as famílias. Algumas famílias apenas precisam de pequenas confirmações de nomes ou de datas para poderem ser imediatamente ligadas entre si, enquanto outras sugerem que talvez só várias gerações para trás, através de um trabalho genealógico profundo, será possível encontrar essas ligações. Há evidentemente muitas pistas para continuar esse trabalho, mas não o poderemos levar a bom termo dentro das paredes do próprio CEP, devido a várias dificuldades e limitações, de que são um bom exemplo as 111 famílias da Póvoa/Vila do Conde que permanecem distintas. Uma delas é a complexidade dos padrões de transmissão dos nomes. Há famílias em que a linhagem feminina tem um nome e a masculina outro. As alcunhas e os nomes próprios misturam-se, e por vezes as

próprias alcunhas são incorporadas nos nomes. Outras vezes, os filhos têm os apelidos dos padrinhos e não os dos pais. Em algumas famílias, os filhos nascidos depois do início da doença do progenitor perdem os apelidos de afectados, o "nome maldito", o que traduz provavelmente o estigma que ainda recai sobre cada membro de uma família de PAF. Daí que outra dificuldade muito frequente também é a da negação sistemática que certos doentes fazem de pertencerem ou terem ligações mais ou menos remotas a famílias de afectados. Noutros casos ainda, há problemas de ilegitimidade que vêm dificultar qualquer trabalho genealógico. Outra dificuldade surge quando há gerações sucessivas de mulheres afectadas com a subsequente perda dos apelidos de afectados.

Uma investigação genealógica passará necessariamente pela consulta de outras fontes de informação como registos de nascimento, casamento e morte e pelo tratamento desses dados através de algoritmos apropriados, como os que foram utilizados para reconstruir as genealogias da distrofia miotónica na região do Saguenay (Québec)[24,25].

Outra perspectiva de estudo da origem (comum?) do gene reside no uso de marcadores genéticos que permitam determinar a probabilidade de ligação entre famílias afectadas, sobretudo as que têm origens diferentes.

3.6.2 A PAF É UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NA ÁREA DA PÓVOA/VILA DO CONDE

Na região da Póvoa e Vila do Conde, a PAF tem um efeito ainda mais devastador nos doentes, nas suas famílias e na própria comunidade. Em primeiro lugar, o impacto sobre o próprio indivíduo é terrível, ao atingi-lo na 3ª ou 4ª década, em plena vida activa e reprodutiva, e ao condená-lo a uma morte precoce por volta dos 40 anos, reduzindo por isso drasticamente a sua esperança de vida. Por outro lado, a PAF é uma doença familiar, e por isso nenhum membro, mesmo os que posteriormente se vêm a comprovar não afectados e não-portadores, escapa ao seu estigma, ao facto de terem de cuidar dos doentes e ao receio de eles próprios virem a contrair a doença e a transmitirem. Além disso, as

elevadas taxas de prevalência fazem da PAF uma doença que, pelo menos nesta comunidade, deixou de ser rara para ser um verdadeiro problema de saúde pública[15].

O método de Reed e Chandler, que foi usado para calcular estimativas do número de portadores do gene, tem a vantagem de usar tanto a estrutura etária da população geral como a distribuição da idade de início nos doentes. Contudo, o seu defeito é que a fórmula depende também do número de doentes conhecidos, e portanto está sujeita a flutuações resultantes do tipo de detecção que foi usada.

Em qualquer dos casos, o número de doentes e de portadores é extremamente elevado, sobretudo para uma doença tão incapacitante. Há poucos exemplos de doenças autossómicas dominantes que atinjam estas proporções numa comunidade. No que se refere à PAF, estes números só são comparáveis ao que sucede no Norte da Suécia[26-29], onde, contudo, a doença é muito mais tardia e por isso não atinge proporções tão dramáticas.

3.6.3 UMA DOENÇA EM EXPANSÃO?

O facto de ter sido usado um arquivo construído ao longo de 50 anos permite que se possam fazer dois estudos transversais, os doentes vivos em 1981 e em 1991, e procurar detectar o que possa ter mudado nesses dez anos. A primeira constatação é que a média da idade de início dos doentes da zona da Póvoa/Vila do Conde tem vindo a aumentar, o que se deve, em parte, a um reconhecimento relativamente recente dos casos de início tardio como fazendo parte da mesma doença. Além disso, a estrutura etária da população geral sofreu importantes modificações, com um aumento significativo da esperança de vida, o que faz com que alguns portadores do gene da PAF possam viver até mais tarde e manifestar um início tardio, enquanto no passado tinham mais probabilidades de morrer mais cedo de outras causas.

Além disso, sabemos que houve uma melhoria na detecção de doentes na Póvoa/Vila do Conde, entre 1981 e 1991, devido a uma melhor divulgação da doença, a

transformações nos serviços de saúde (criação de valências locais e do Centro de Estudos e Apoio à Paramiloidose na Póvoa) e também ao facto de, entretanto, ter ficado disponível o marcador bioquímico, com as suas consequências ao nível da confirmação do diagnóstico.

E, se é verdade que os dados apresentados em relação a 1981 já não deverão ser corrigidos pela inclusão de novos doentes, as estimativas da taxa de prevalência e da frequência de portadores foram feitas, para o ano de 1991, com base nos doentes diagnosticados *no CEP* até Dezembro de 1992. Por isso são certamente estimativas por defeito, uma vez que a demora média de diagnóstico é de cerca de 4 anos, o que quer dizer que muitos indivíduos já doentes em 1991 ainda não estão a ser contabilizados para a estimativa da prevalência e da frequência de heterozigotos por não terem vindo ao CEP até àquela data limite.

De qualquer modo, o aumento entre 1981 e 1991 das taxas de prevalência e do número médio de novos casos por ano parece indicar que a doença se encontra em expansão pelo menos na população da Póvoa/Vila do Conde[15].

O facto de um gene que provoca uma doença incapacitante, com uma redução tão drástica da esperança de vida, poder atingir uma frequência tão elevada nesta população (e estar mesmo a aumentar) levanta a questão de uma possível vantagem selectiva, o que será tratado no capítulo 7.

3.6.4 A HOMOGENEIDADE DA AMOSTRA DA PÓVOA/VILA DO CONDE

Mais de 40 anos decorridos sobre a primeira descrição da PAF, e quando hoje se conhece uma maior variabilidade fenotípica, os doentes da região da Póvoa/Vila do Conde parecem constituir, tal como consta das observações iniciais de Andrade, um conjunto bastante homogéneo no que diz respeito à idade de início e penetrância, e portanto diferente da amostra global.

Outros estudos demonstraram que os casos isolados ou sem nenhum progenitor afectado[30] ou os casos tardios e os portadores assintomáticos de idades avançadas (Sousa e Sequeiros, dados não publicados e também este estudo, cap. 5) tinham sobretudo origem em zonas geográficas distintas das de maior prevalência da doença. A idade de início "clássica" e a ideia de penetrância completa na maioria dos portadores do gene teve muito a ver com as características dos doentes desta zona, em que cerca de 70% dos doentes começam as primeiras manifestações entre os 25 e os 35 anos de idade, e com o facto de aí se terem centrado as primeiras descrições[1,31,32].

Os nossos resultados confirmam estudos anteriores que descreveram e analisaram as diferenças de manifestação da PAF nos homens e nas mulheres[5,9,21,22]: há mais homens que mulheres afectados e a idade de início é, em média, cerca de cinco anos mais precoce nos homens que nas mulheres. Becker sugeriu que o início mais tardio nas mulheres e a penetrância incompleta no sexo feminino deveriam ter sido suficientes para assegurar a transmissão do gene e o aumento do número de portadores que terá acompanhado um aumento geral da população desta área desde há cerca de 150 anos[5]. Esta questão será tratada no Capítulo 7.

3.7 BIBLIOGRAFIA

1 Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy. *Brain* 1952;**75**:408-427.

2 Furtado D, Gonçalves A, Carvalho O. Paramiloidose de forma nevrítica. *J Méd (Porto)* 1952;**20**:977-983.

3 Ribeiro do Rosário M, Antunes L, Barros F. Contribuição para o estudo clínico e laboratorial da paramiloidose de Corino de Andrade. *J Soc Cien Méd* 1961;**75**:1-46.

4 Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F, Silva P, Coelho B. Études sur la paramyloïdose portugaise à forme polynévritique (type C. Andrade): I-Remarques sur le tableau clinique et résultats de quelques examens complémentaires. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl. 2**:12-18.

5 Becker PE, Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F. Paramyloidose der peripheren Nerven in Portugal. *Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre* 1964;**37**:329-364.

6 Klein D. La polyneuropathie amyloïde héréditaire. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl. 2**:49-53.

7 Andrade C. Clinique de la paramyloïdose du type portugais. *Acta Neuropathol* 1963;**Suppl. 2**:3-11.

8 Costa PP. Polineuropatia Amiloidótica Familiar. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1976;**1(1)**:71-75.

9 Coutinho P, Silva AM, Lima LJ. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds).*Amyloid and amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

10 Sequeiros J. Genetics of hereditary amyloid neuropathy. In: Sales-Luís ML, Almeida LB, Costa PP, (eds).*Symposium on Peripheral Neuropathies*. Lisbon: 1986:251-259.

11 Santos Graça A. *O Poveiro*. Póvoa do Varzim: Edição do Autor, 1932.

12 Almeida MR, Sasaki H, Sakaki Y, et al. Haplotype analysis of different FAP individuals with methionine 30 mutation in Europe. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:189-192.

13 Costa P. History and geography of familial amyloidotic polyneuropathy, portuguese type. In: Sales-Luís ML, Almeida LB, Costa PP, (eds).*Symposium on peripheral neuropathies*. 1986:201-205.

14 Coutinho P (coord.) e div. autores: *As Viagens de um Gene - A História das migrações da Paramiloidose no Mundo/Travels of a Gene - A Tale of the Migrations of Familial Amyloidotic Polyneuropathy (Portuguese Type),* catálogo bilingue da exposição "As Viagens de um Gene / Travels of a Gene", *1st Intern. Symp. Familial Amyloidotic Polyneuropathy and Other Transthyretin Related Disorders*, Granja, 1989.

15 Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) - type I in Póvoa do Varzim/Vila do Conde (North of Portugal). *Neurop Genetics* (em publicação).

16 Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *American statistical association journal* 1958;**53**:457-481.

17 Matthews DE, Farewell VT. *Using and understanding Medical Statistics*. Basel: Karger, 1988;

18 Instituto Nacional de Estatística. *XII Recenseamento Geral da População. II Recenseamento Geral da Habitação (1981). Resultados Definitivos. Distrito do Porto*. Lisboa: Imprensa Nacional-Casa da Moeda, 1984.

19 Instituto Nacional de Estatística. *XIII Recenseamento Geral da População. III Recenseamento Geral da Habitação (1991). Resultados definitivos. Distrito do Porto*. Lisboa: Imprensa Nacional-Casa da Moeda, 1994.

20 Reed TE, Chandler JH. Huntington's Chorea in Michigan: 1. Demography and Genetics. *Am J Hum Genet* 1958;**10**:201-225.

21 Sousa A, Lobato L, Sequeiros J. Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (português, Andrade) - Variação familiar e modelos genéticos. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1988;**3**:63-69.

22 Sequeiros J, Sousa A, Coelho T. Sex-differences and age-dependent penetrance in FAP-type I. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds) *Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:687-690.

23 Sousa A, Coelho T, Morgado R, Coutinho P. Statistical Analysis of Factors which may influence the duration of Familial Amyloidotic Polyneuropathy Type I. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:351-355.

24 Bouchard G, Roy R, Declos M, Mathieu J, Kouladjian K. Origin and Diffusion of the Myotonic Dystrophy Gene in the Saguenay Region (Québec). *Can J Neurol Sci* 1989;**16**:119-122.

25 Mathieu J, De Braekeleer M, Prévost C. Genealogical reconstruction of myotonic dystrophy in the Saguenay-Lac-Saint-Jean area (Québec, Canada). *Neurology* 1990;**40**:839-842.

26 Holmgren G, Andersson R, Sandgren O, Steen L. An epidemiological study of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP-MET30) in Northern Sweden. *Boletim do Hospital (HGSA, Porto)* 1988;**3(9)**:47-52.

27 Sousa A, Drugge U, Andersson R, Holmgren G, Sandgren O. A prevalence study of FAP in northern Sweden. *The Journ of Rheum* 1993;**20**:190 (Abstract).

28 Sousa A, Andersson R, Drugge U, Holmgren G, Sandgren O. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: geographical distribution,age of onset,and prevalence. *Hum Hered* 1993;**43**:288-294.

29 Holmgren G, Costa PMP, Andersson C, Asplund K, Steen L, Beckman L, Nylander P-O, Teixeira A, Saraiva MJM, Costa PP. Geographical distribuition of TTR met30 carriers in northern Sweden: discrepancy between carrier frequency and prevalence rate. *J Med Genet* 1994;**31**:351-354.

30 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**:293-299.

31 Andrade C. Familial Amyloidotic Polyneuropathy. In: Mandema E, Ruinen L, Scholten JH, Cohen AS, (eds).*Proceedings of the Symposium on Amyloidosis,Groningen,September 1967*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1968:377-390.

32 Andrade C, Araki S, Block WB, Cohen A, Jackson CE, Kuroiwa Y, McKusick VA, Nissim J, Sohar E, Van Allen MW. Hereditary Amyloidosis. *Arthritis and Rheumatism* 1970;**13, n.6**:902-915.

4. EPIDEMIOLOGIA GENÉTICA DA PAF NA SUÉCIA: A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, A IDADE DE INÍCIO E A PREVALÊNCIA, COM INCIDÊNCIA PARTICULAR NAS ÁREAS DE SKELLEFTEÅ E PITEÅ

4.1 INTRODUÇÃO

Como já foi dito, o primeiro caso de PAF na Suécia (da região de Sorsele) foi diagnosticado em 1965 e descrito por Andersson em 1968[1]. Desde então, têm sido conhecidos, em média, cerca de 7.5 novos doentes em cada ano. Todos os doentes até agora diagnosticados pertenciam a famílias originárias dos dois distritos mais a Norte da Suécia, Västerbotten e Norrbotten (Figura 4.1 e Figura 4.2). Estes dois distritos cobrem, no seu conjunto, cerca de 154339 km^2, ou seja, 40% da área total da Suécia e tinham, em 1985, uma população total de 507555 habitantes. As duas zonas de maior concentração de doentes, Skellefteå e Piteå (Figura 4.2), tinham, em 1985, uma população de 79794 e 48325 habitantes, respectivamente.

A densidade populacional é muito maior junto à costa do mar Báltico (golfo de Bótnia), enquanto a região do interior, mais montanhosa, é constituída por povoações

pequenas que, até a um passado recente, estavam muito isoladas. Como noutras zonas da Suécia, também daqui houve grandes emigrações no século XIX, sobretudo para os Estados Unidos e Canadá.

Em 1977, Benson e Cohen descreveram uma família norte-americana de origem sueca com algumas características clínicas tidas como pouco habituais, tais como nefropatia[2]. Mais recentemente, foi estabelecida a ligação genealógica entre essa família e um doente sueco (nascido em 1919 e diagnosticado em 1985) que vivia no interior de Norrbotten, na mesma freguesia de origem dos antepassados da família sueca-americana[3].

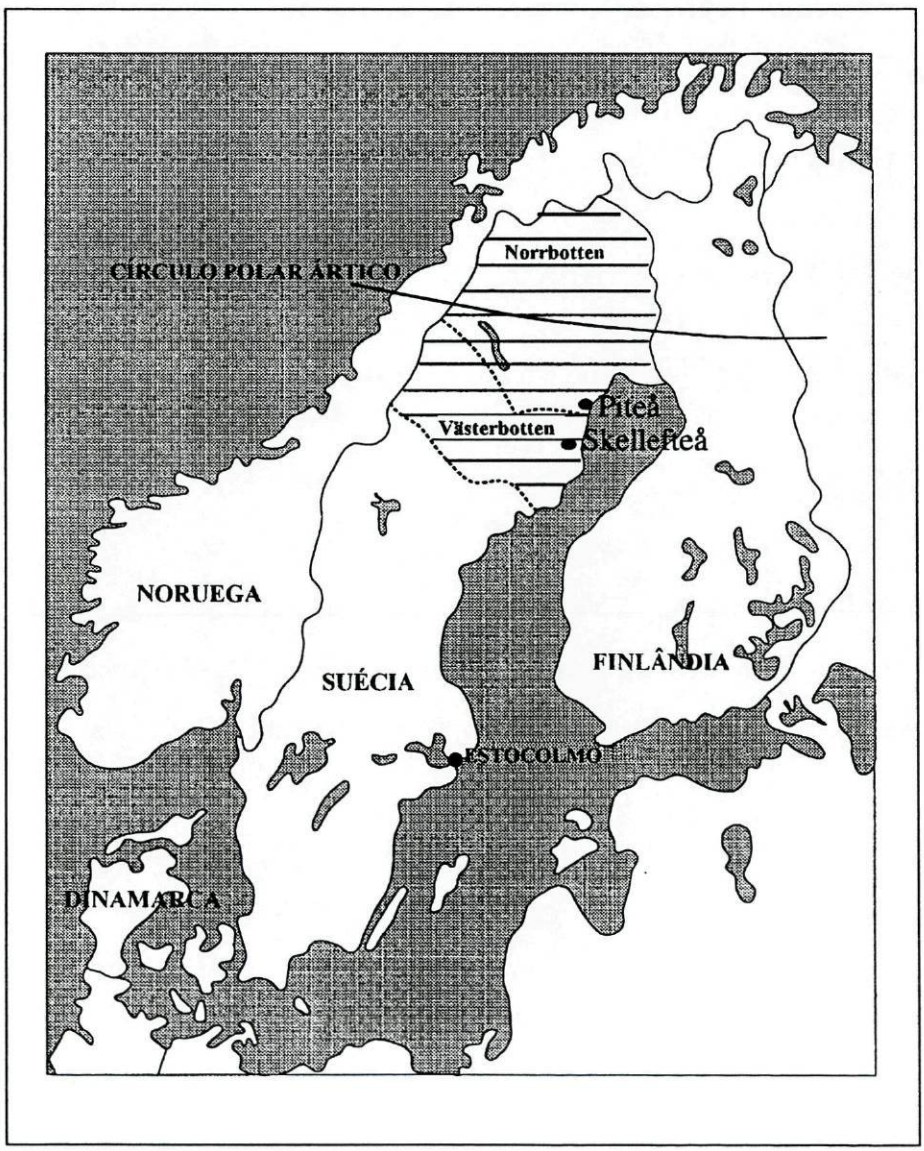


Figura 4.1 Mapa da Escandinávia, estando assinalados os dois distritos do Norte da Suécia, Västerbotten e Norrbotten

A população actual desta parte da Suécia deriva de migrações e de misturas bastante complexas[4]. A presença dos *saamis* (lapões) no norte da Suécia deve datar de há 2000 ou 3000 anos, quando fugiram para o norte em consequência do avanço das tribos finlandesas que deverão ter chegado ao norte da Suécia cerca de 500 D.C.. A maior parte da imigração finlandesa para o norte da Suécia fez-se através do norte da Finlândia, embora nos séculos XV e XVI também tenha havido imigração para a parte sul do norte da Suécia através da zona central. A colonização da zona costeira por populações originárias do centro da Suécia só deve ter tido lugar cerca de 1300, após o que começou o povoamento ao longo dos rios feito nos últimos 300 ou 400 anos[4].

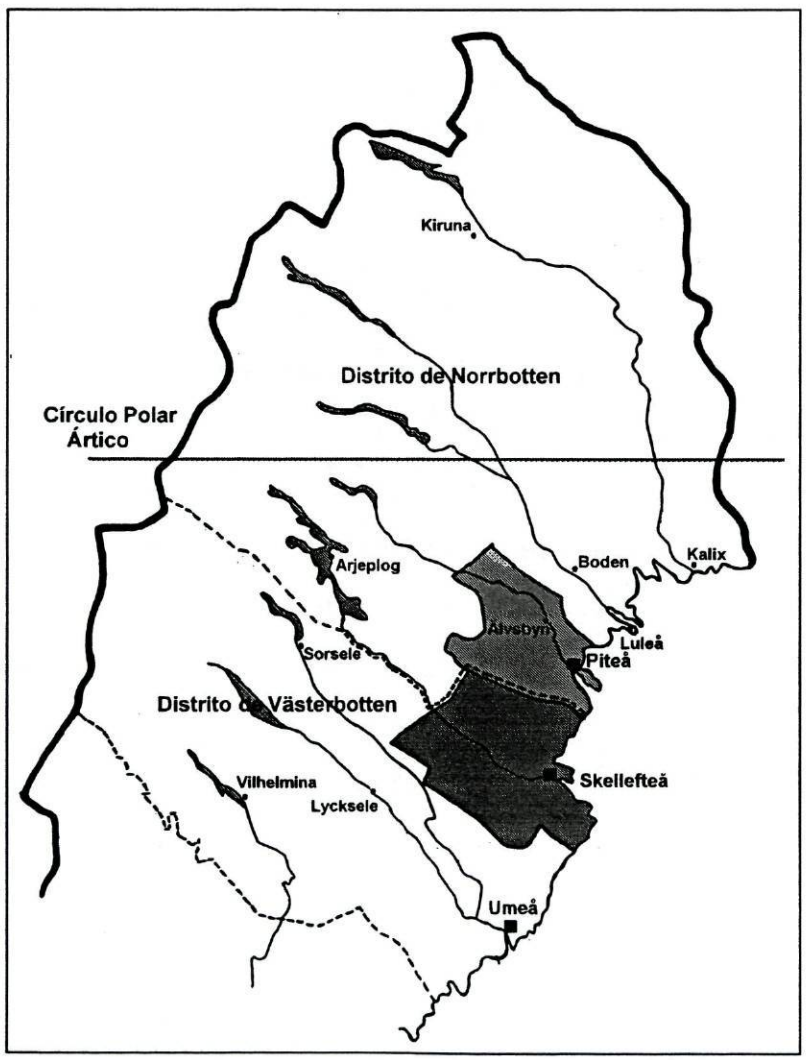


Figura 4.2 Mapas dos distritos de Västerbotten e Norrbotten, destacando-se as áreas de Skellefteå e Piteå

Só neste século, a partir de 1930, o isolamento de cada uma destas populações se começou a quebrar, tendo diminuído consideravelmente o seu grau de endogamia[5]. A mistura entre estas três componentes populacionais é, por isso, relativamente recente, o que poderá explicar a heterogeneidade étnica desta população, com os seus efeitos na difusão das doenças genéticas. Não é pois de admirar que certas doenças dominantes atinjam uma frequência relativamente elevada numa dada área restrita e estejam completamente ausentes noutras, como é o caso da concentração da doença de Best (degenerescência hereditária da mácula) na zona de Vilhelmina, no sudoeste de Västerbotten[6] ou da porfíria intermitente no noroeste, junto a Arjeplog[7].

Esta concentração geográfica de doenças genéticas tem sido atribuída a um efeito de fundador associado à colonização de pequenos grupos de imigrantes vindos do centro da Suécia. Na realidade, não se conhecem antepassados finlandeses nem *saamis* para nenhuma destas doenças monogénicas descritas no norte da Suécia[4].

Os dois primeiros doentes com PAF observados e diagnosticados por Andersson tinham nascido e pertenciam a uma família originária da região de Sorsele, a cerca de 300 km da costa[8]. Cerca de um ano mais tarde, Andersson diagnosticou mais alguns doentes pertencentes a uma outra família com origem na região de Skellefteå. Nos anos subsequentes, vários outros casos, quer familiares quer (na altura) isolados, foram por ele observados e diagnosticados. A sua tese de doutoramento[9] dá-nos conta não só das características clínicas desses doentes, mas também do resultado da investigação genealógica. A distribuição geográfica desses doentes (Figura 4.3) era substancialmente diferente da que hoje conhecemos. Era a ponta de uma meada que se foi desenrolando nos últimos 30 anos.

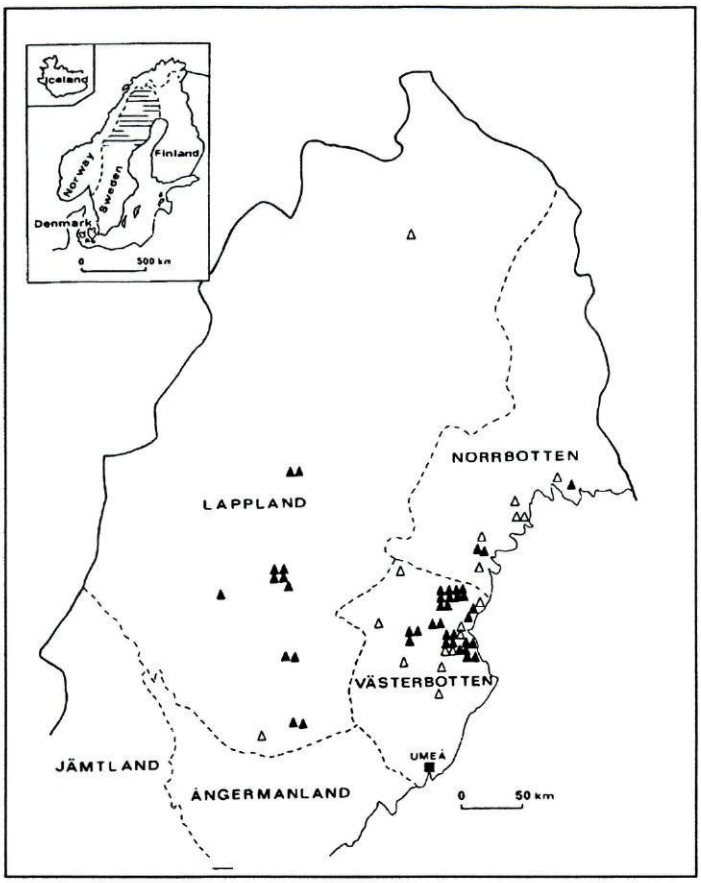


Figura 4.3 Localidades de nascimento dos 60 doentes descritos por Andersson em 1976: Δ-casos isolados; ▲ casos familiares (Reproduzido com autorização do autor)

Com este trabalho pretendeu-se descrever a distribuição geográfica dos doentes e famílias de PAF nos distritos do norte da Suécia, Västerbotten e Norrbotten, procurar diferenças geográficas na idade de início e taxas de prevalência e incidência[10]. As regiões à volta das cidades de Skellefteå e de Piteå foram objecto de comparações mais específicas. Procurou-se também avaliar a evolução dessas diferenças ao longo do tempo, tendo sido escolhidos para essas comparações diferentes anos de Censo (1970, 1975, 1980 e 1985).

4.2 SUJEITOS

A amostra para o presente estudo é constituída pelos 239 doentes (157 homens, 82 mulheres) diagnosticados no norte da Suécia entre 1965 e 1990. Os critérios de diagnóstico e de inclusão foram descritos no Capítulo 2.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 DEFINIÇÕES

a) Casos familiares, casos isolados e casos com ligações familiares

Os doentes foram classificados como *casos familiares* se tinham um familiar de primeiro grau (pai/mãe, irmão/irmã ou filho/filha), de segundo grau (tio/tia ou sobrinho/sobrinha) ou terceiro grau (primo/prima) também afectados (descritos ou confirmados); como *casos isolados*, quando não era conhecido qualquer familiar de primeiro ou segundo grau que tivesse também a doença; ou como *casos com ligações familiares* quando a investigação genealógica conseguiu ligar doentes com graus de parentesco mais afastados e que desconheciam a existência dessas ligações entre si.

b) A origem da família

Tal como para os doentes portugueses, foi definida como o local de nascimento do antepassado mais remoto conhecido como afectado. Nos casos isolados ou com ligações familiares, representa o local de nascimento do próprio doente, ou o dos pais, se este for o mesmo para ambos os progenitores.

c) Estimativas das taxas de prevalência e de incidência e da frequência de portadores do gene

As taxas de prevalência e de incidência foram calculadas para diferentes anos de recenseamento da população sueca (1970, 1975, 1980 e 1985), usando os dados desses recenseamentos[11]. Para cada um desses anos, foram feitas dois tipos de estimativas: na primeira, foi incluída toda a população da área em estudo; na segunda, considerou-se apenas a parte da população em que seria possível aparecer a doença, ou seja, a população com mais de 25 anos, dado que a PAF na Suécia não começava antes dos 26 anos.

Apesar de os dados terem sido recolhidos em 1990 (ano de censo), não fizemos estimativas da prevalência para esse ano, tendo sim tratado mais detalhadamente os dados relativos a 1985. Sabendo que existe, em média, um intervalo de cerca de seis anos entre o

início dos sintomas e o diagnóstico[9], faz sentido que o ano a que se refere a prevalência anteceda em alguns anos o fim do período para a recolha de dados, de modo a incluir doentes cujo diagnóstico é posterior ao ano de censo, obtendo assim uma estimativa da prevalência mais próxima da real.

Para se poder ter uma ideia mais real do contributo relativo das áreas de Skellefteå e Piteå em termos de densidades de doentes, calculei ainda as taxas de prevalência contabilizando não apenas os doentes que viviam naquelas áreas no ano do Censo mas também todos os que lá tinham nascido.

A frequência de portadores do gene (em 1985) foi estimada, para as áreas de Skellefteå e Piteå usando o método de Reed e Chandler[12] já descrito no capítulo anterior (p. 61).

d) Métodos de investigação genealógica

Os métodos e procedimentos necessários para a construção de grandes árvores familiares, utilizando primeiro os registos paroquiais e depois uma base de dados em CD-ROM, foram já descritos por nós[13]. A pesquisa genealógica dos antepassados de cada família iniciou-se sempre pelo indivíduo mais antigo que se sabia (ou se suspeitava fortemente) ter tido a doença.

As primeiras famílias a serem investigadas genealogicamente por Ulf Drugge[13] foram as que tinham sido observadas e descritas por Rune Andersson[9] e as detectadas mais recentemente através da consulta de Genética do Hospital de Umeå. Essa investigação tinha conduzido ao estabelecimento de uma grande árvore familiar que ligava entre si 43 doentes todos eles descendendo de um casal nascido no século XVII numa aldeia próxima do que é hoje a cidade de Skellefteå[14].

A recolha de dados clínicos e familiares feita ao longo do ano de 1990 permitiu aumentar substancialmente o número de pequenas famílias conhecidas, o que se reflectiu posteriormente na possibilidade de alargar essa grande árvore familiar já estabelecida e construir outras[13]. O pressuposto prévio foi então o estabelecimento de graus de parentesco

entre os doentes já identificados. Na primeira fase do meu trabalho de recolha e organização dos dados, vários casos até aí não familiares foram então ligados a outros.

e) Métodos estatísticos

O teste t de Student foi usado para comparar as médias de idade de início, idade de morte, idade à data do diagnóstico, duração total e demora do diagnóstico em dois grupos (sexo ou região geográfica). O teste do Qui-quadrado de homogeneidade foi usado para comparar a distribuição dos casos familiares em diferentes regiões geográficas. As diferenças de médias de idade de início nas quatro regiões geográficas foram estudadas por uma análise de variância a um factor e pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

4.4 RESULTADOS

4.4.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Dos 239 doentes, 157 eram homens e 82 mulheres, uma razão 1.9:1, o que não é significativamente diferente da razão 2:1 encontrada por Andersson[9], mas significativamente superior à encontrada nos doentes portugueses (1.3:1). Em Dezembro de 1990 (data final da recolha dos dados, estavam vivos 90 destes doentes (53 homens, 37 mulheres). Tinha sido possível comprovar a presença da TTR^{Met30} em 61 desses doentes ou em familiares do primeiro grau (6 casos).

Seis desses doentes eram homozigotos comprovados para o gene da TTR^{Met30}.

4.4.2 ANOS DE NASCIMENTO E DE DIAGNÓSTICO

O Quadro 4.1 descreve a distribuição dos doentes por ano de nascimento. Cerca de 50% dos doentes nasceram entre 1900 e 1919. A baixa percentagem de doentes nascidos antes de 1900 deve-se evidentemente ao facto de ser difícil que os indivíduos nascidos nessas décadas tenham conseguido viver até serem diagnosticados. Quanto a anos mais

recentes, dado o início particularmente tardio da PAF na Suécia, é claro que a maioria dos portadores neles nascidos ainda não tiveram tempo de manifestar sintomas. Ao longo das várias décadas a proporção de homens é sempre superior à das mulheres, mas estas estão particularmente sub-representadas no grupo de doentes nascidos antes de 1900.

Quadro 4.1 Distribuição dos doentes suecos por ano de nascimento e sexo

Ano de nascimento	Homens	Mulheres	Total	%	Razão
1876-1899	24	4	28	11.7	6.0
1900-1909	30	19	49	20.5	1.6
1910-1919	49	23	72	30.1	2.1
1920-1929	22	15	37	15.5	1.5
1930-1939	18	14	32	13.4	1.3
1940-1949	9	4	13	5.4	2.3
1950-1961	5	3	8	3.3	1.7
Total	157	82	239	100	1.9

Quanto ao ano de diagnóstico, conhecido para 222 doentes (Quadro 4.2), o peso significativo na amostra dos doentes diagnosticados nos últimos dez anos anteriores à data da recolha de dados, é certamente indicativo de uma melhor detecção de doentes. Por outro lado, o aumento ao longo do tempo faz reforçar a suspeita de que os casos que se conhecem hoje constituirão uma sub-estimativa da dimensão real do problema. Também aqui se verifica que a maior discrepância entre homens e mulheres se verificou nos primeiros anos de diagnóstico, tendo diminuído nos anos imediatamente anteriores à recolha de dados.

Quadro 4.2 Distribuição dos doentes suecos por ano de diagnóstico e sexo

Ano de diagnóstico	Homens	Mulheres	Total	%	Razão
1965-1970	16	5	21	9.4	3.2
1971-1975	23	11	34	15.3	2.1
1976-1980	30	16	46	20.7	1.9
1981-1985	40	21	61	27.5	1.9
1986-1990	37	23	60	27.0	1.6
Total	146	76	222	100	1.9

4.4.3 A IDADE DE INÍCIO, A IDADE À DATA DO DIAGNÓSTICO E A DEMORA NO DIAGNÓSTICO

A idade de início (Quadro 4.3) exibia uma enorme variabilidade (26 aos 84 anos), com uma média de 56.7, um desvio-padrão de 13.2 e uma mediana de 57 anos; apenas 13% dos casos manifestavam sintomas antes dos 40 anos de idade (enquanto que a percentagem correspondente nos doentes portugueses era de 81%); 25% dos 239 doentes adoeceram depois dos 68 anos. Não havia diferenças significativas entre as médias das idades de início dos homens e das mulheres, aspecto este que será retomado no Capítulo 5.

Quadro 4.3 Descrição geral das características dos doentes suecos

Variável	N	Amplitude	Perc.25	Mediana	Perc.75	Média	d.p.
Ano nascimento	239	1876-1961	1905	1914	1928		
Ano diagnóstico	222	1965-1990	1976	1981	1986		
Idade início (anos)	237	26-84	46	57	68	56.7	13.2
Idade à data do diagnóstico	222	27-92	54	64	72	62.0	13.6
Demora diagnóstico	221	0-26	2	4	6	4.8	4.2
Idade morte	94	37-97	57	68	75	66.3	12.9
Duração total	94	2-31	7	11	14	10.9	5.2

Quanto à idade à data do diagnóstico (Quadro 4.3), vários aspectos deste quadro devem ser comentados. Se 50% dos doentes incluídos neste estudo foram diagnosticados depois dos 64 anos e 25% depois dos 72 anos, torna-se mais claro que muitos outros portadores nunca venham a ser doentes por morrerem de outras causas antes dessas idades.

A demora do diagnóstico (Quadro 4.3) é mais elevada que nos doentes portugueses da Póvoa/Vila do Conde (3.8)[15], mas semelhante à dos doentes portugueses sem história de doença nos progenitores (4.5)[16] e já mais baixa que a descrita por Andersson (6.1 anos)[9].

4.4.4 IDADE DE MORTE E DURAÇÃO

Quanto à idade de morte, se é verdade que uma parte dos doentes vêem a sua esperança de vida reduzida (25% morre antes dos 57 anos e 50% antes dos 68 anos), outra parte tem uma sobrevida não muito diferente do resto da população sueca (77.4 anos para os

homens e 83.2 para as mulherses): basta para isso observarmos que 25% dos doentes morreu depois dos 75 anos de idade (Quadro 4.3).

A duração é perfeitamente sobreponível à dos doentes estudados por Andersson (10.7)[9] e muito semelhante aos doentes portugueses (10.9)[17], brasileiros (10.7)[18], japoneses (9.4)[19] ou maiorquinos (10.9 anos)[20].

4.4.5 AS FAMÍLIAS

Da listagem inicial de doentes de que este trabalho partiu, no Verão de 1990, 136 eram à partida considerados isolados, na medida em que não se conhecia (em muitos dos casos por não se ter ainda investigado) nenhuma ligação a outros doentes.

Por isso, o primeiro passo foi procurar laços familiares entre esses doentes e famílias já identificadas. Uma parte do trabalho foi muito simplificada pelo facto de Rune Andersson me ter facultado o acesso aos dados familiares por ele recolhidos[9]: quinze famílias (que abrangiam, na altura da sua publicação, 42 doentes) e 18 doentes supostamente isolados. Foi possível de forma relativamente simples estabelecer ligações àquelas quinze famílias em 30 doentes; nove doentes entretanto diagnosticados foram ligados a seis das 18 famílias dos casos considerados isolados no estudo de Andersson. Novas famílias foram contruídas juntando várias fontes de informação (os processos clínicos, o questionário familiar e os registos paroquiais). Recordo um exemplo concreto de uma família reconstituída a partir de quatro doentes confirmados mas cada um deles supostamente considerado como um caso isolado. A doente mais antiga tinha sido observada por Rune Andersson, mas nessa altura não lhe era conhecido qualquer outro familiar afectado. Mais tarde, dois dos seus irmãos foram diagnosticados (um em Umeå e o outro em Skellefteå), sem que se tivesse estabelecido qualquer ligação familiar entre eles; foi através da resposta de um deles ao questionário familiar (descrito no Capítulo 2) que soubemos não só que eram irmãos como também que a primeira doente citada era irmã deles. Além disso, no processo clínico de uma outra doente, encontrámos a seguinte informação: "um primo do

lado paterno também tem amiloidose". Começámos por procurar na nossa lista se haveria outros doentes oriundos da mesma localidade e encontrámos cinco. Em seguida, o uso dos registos paroquiais permitiu estabelecer que a mãe dos três irmãos anteriores e o pai desta doente eram afinal também eles irmãos.

Como resultado final deste trabalho conseguiu-se estabelecer que 155 doentes eram casos familiares e 84 eram isolados, ou seja, não foi possível reconhecer a manifestação da doença em nenhum parente próximo (1° ou 2° grau). Em 34 destes últimos, a investigação genealógica conseguiu ligá-los, através de graus de parentesco mais afastados, a outros doentes conhecidos. Foi assim possível reunir 18 casos supostamente isolados e 87 dos casos familiares em cinco grandes árvores familiares com mais de dez doentes: quatro destas famílias tinham 10 gerações e os seus antepassados mais remotos, todos da região de Skellefteå, tinham nascido no século XVII[13]! Uma dessas árvores, extensão de uma outra já anteriormente construída [14], liga entre si 63 doentes, ou seja, mais de metade dos doentes nascidos na área de Skellefteå (Figura 4.4).

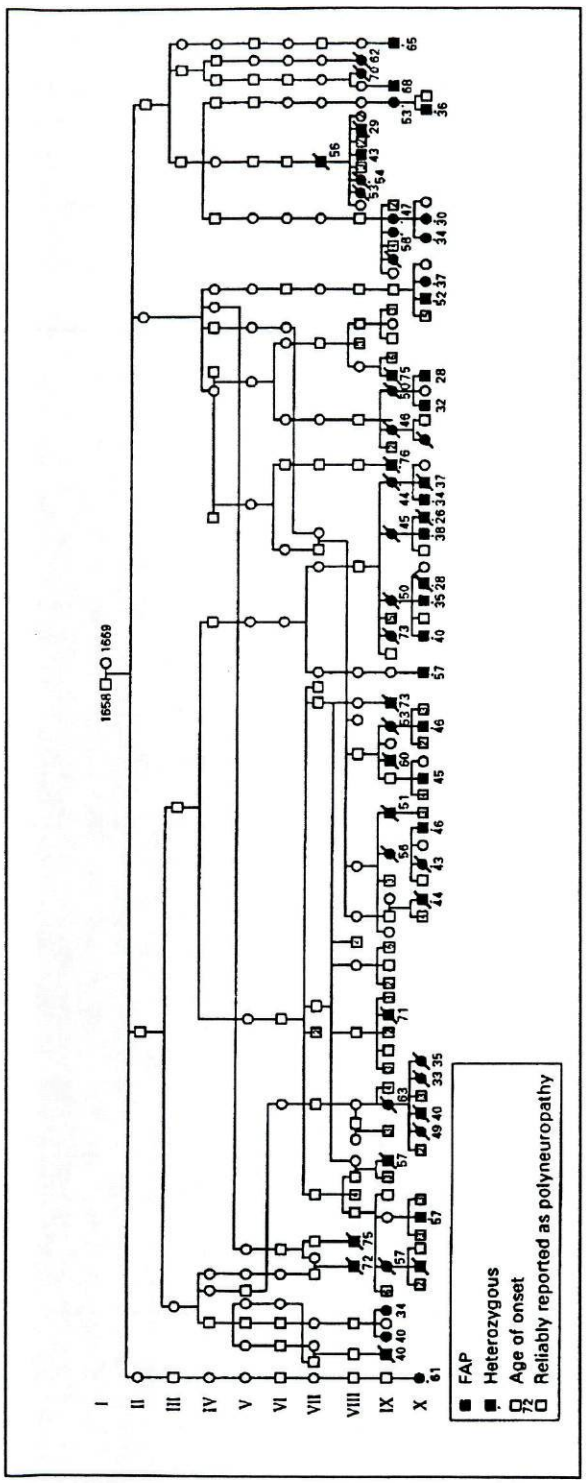


Figura 4.4 Árvore familiar ligando 63 doentes da região de Skellefteå

(Fonte: Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, Sousa A. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: A pedigree analysis. Journal of Medical Genetics; 1993;**30**:388-392.)

Existem ainda 84 outros doentes distribuídos por cerca de 30 famílias mais pequenas, de tamanho e número de gerações variável, que não foram ligadas nem entre si nem às outras árvores, e mais 50 doentes completamente isolados, não tendo quaisquer familiares afectados, próximos ou remotos. Andersson, no seu estudo de 60 doentes[9], referiu 18 casos dos quais não se conhecia nenhum familiar afectado. Em relação a seis deles, são hoje conhecidos outros familiares com a doença: filhos (3), irmãos (2) e um sobrinho (1), enquanto que os outros 12 permanecem isolados.

A média da idade de início era mais baixa para os casos familiares (53.6 ± 12.9 anos) do que para os casos isolados (65.1 ± 11.1), enquanto que os casos com ligações familiares, que formam um grupo heterogéneo, tinham uma idade média de início intermédia (57.9 ± 12.1 anos).

Não foram até agora encontradas quaisquer ligações entre as famílias de Piteå e as de Skellefteå. As árvores de Piteå, construídas "manualmente" (isto é, sem o apoio do disco óptico), têm menos gerações do que as de Skellefteå.

4.4.6 A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS DOENTES E DAS FAMÍLIAS

a) A área de origem

O mapa da Figura 4.5 descreve os locais de origem (nascimento) dos doentes. O objectivo é ilustrar de uma forma geral a distribuição geográfica da PAF (cada localidade está pois assinalada por um ponto que pode representar mais que um doente). Distinguem-se assim claramente duas concentrações de doentes bem distintas: uma à volta da cidade de Skellefteå e outra à volta da cidade de Piteå. Em ambos os casos, essas concentrações prolongam-se ainda para o interior ao longo dos respectivos rios, Skellefteälven e Piteälven, rotas habituais do povoamento das zonas interiores. Um outro aspecto interessante, é que não se conhecem doentes que tenham nascido na área entre Skellefteå e Piteå.

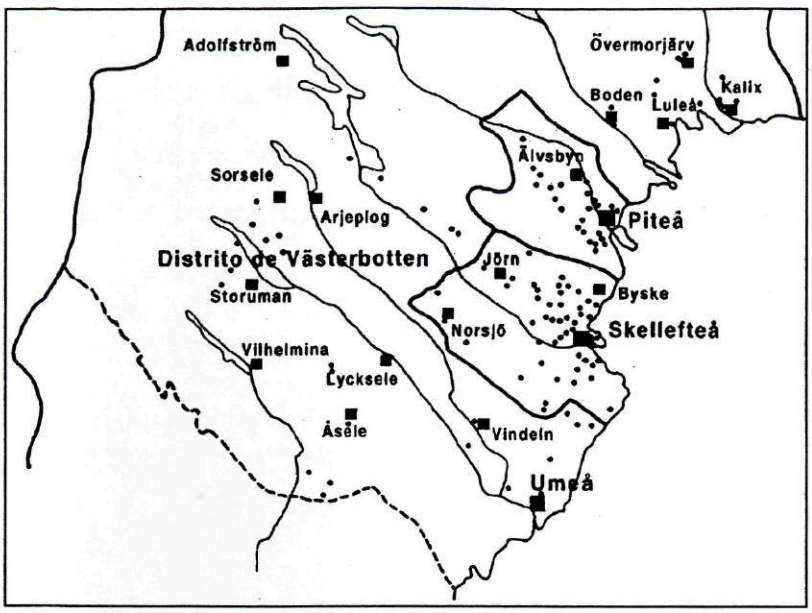


Figura 4.5 Distribuição geográfica dos doentes suecos: cada ponto representa uma localidade onde nasceu pelo menos um doente.

Com o mapa da Figura 4.6, pretende-se ilustrar a densidade da distribuição da doença. Os círculos representam locais de origem de (uma ou mais) famílias com pelo menos dois afectados, enquanto os casos isolados são representados por pontos. Este mapa reforça ainda mais o peso daquelas duas áreas como zona de origem de famílias com PAF.

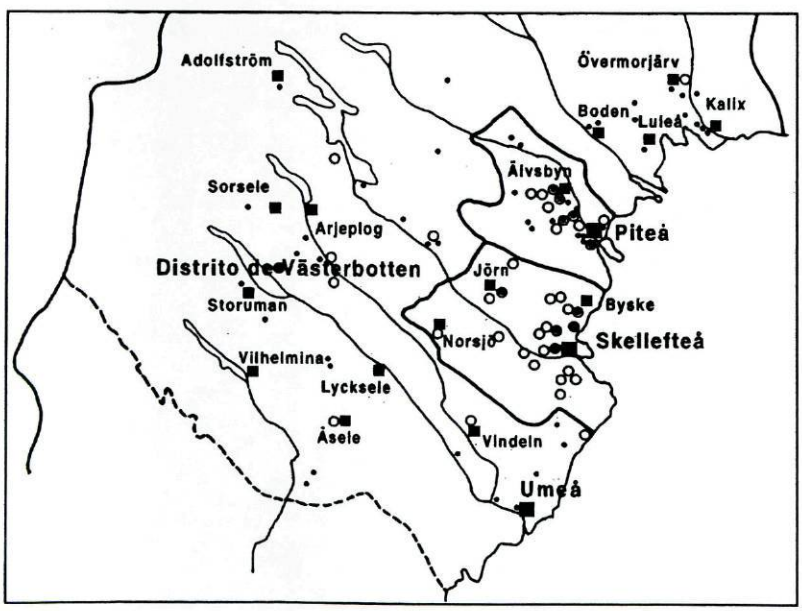


Figura 4.6 Local de nascimento dos doentes suecos: O - casos familiares; • - casos isolados; ⊙ - casos familiares e casos isolados

Na verdade, num total de 239 doentes, 127 (53.1%) são originários da região de Skellefteå e 47 (19.7%) da região de Piteå. No resto da região de Västerbotten ou de Norrbotten, os doentes isolados e as famílias são mais raros e mais dispersos, aspecto esse que se salienta nos dados do Quadro 4.4. A associação entre região geográfica e tipo de casos (X^2_6=22.3, P=0.001) deve-se a um excesso de casos isolados nascidos em Norrbotten.

Quadro 4.4 Região de origem (nascimento) dos doentes e das famílias

Origem	Casos Familiares	Casos com ligações familiares	Casos isolados	Total
Distrito de Västerbotten	**113**	**19**	**29**	**161**
Skellefteå	94	14	19	127
Resto de Västerbotten	19	5	10	34
Distrito de Norrbotten	**42**	**15**	**21**	**78**
Piteå	28	12	7	47
Resto de Norrbotten	14	3	14	31
Total	**155**	**34**	**50**	**239**

b) A área de residência e a mobilidade

A descrição dos 239 doentes em termos de área de origem e área de residência (Quadro 4.5) merece ser comentada com algum detalhe. Verifica-se que 11 doentes viviam noutros distritos da Suécia à data do diagnóstico. Esses doentes pertenciam todos a famílias já identificadas (com origem na nossa área de estudo, sendo nove da região de Skellefteå), o que nos coloca evidentemente a questão de que casos isolados residentes noutras áreas, mesmo que aí diagnosticados, dificilmente viriam a ser incluídos num estudo deste tipo (ver Capítulo 2).

Quadro 4.5 Região de origem e de residência de doentes suecos

Origem	Residência					
	Skellefteå	Resto de Västerbotten	Piteå	Resto de Norrbotten	Resto da Suecia	Total
Skellefteå	109	4	3	2	9	127
Resto de Västerbotten	4	29	0	0	1	34
Piteå	2	0	32	13	0	47
Resto de Norrbotten	3	1	2	24	1	31
Total	118	34	37	39	11	239

O segundo aspecto refere-se à mobilidade dos doentes que residiam em Västerbotten ou Norrbotten à data do diagnóstico (excluindo portanto os 11 que viviam noutras zonas da Suécia) e tem consequências epidemiológicas importantes. A mobilidade parece ser baixa, dado que apenas 34 (14.9%) dos doentes vivia, à data do diagnóstico, numa região diferente da de origem. É certo que quando nos referimos ao resto de Västerbotten (que não a região de Skellefteå) ou ao resto de Norrbotten (que não a região de Piteå) estamos a englobar uma área muito vasta. Mas quando nos referimos a áreas mais bem delimitadas como a de Skellefteå ou a de Piteå, apercebemo-nos de que enquanto só 7.6% dos doentes com origem na região de Skellefteå habitavam uma região diferente à data do diagnóstico, a proporção correspondente para a região de Piteå era de 32%.

4.4.7 A DISTRIBUIÇÃO DA IDADE DE INÍCIO EM DIFERENTES ZONAS GEOGRÁFICAS

O Quadro 4.6 descreve a média de idade de início nas diferentes áreas geográficas, quer tomadas como área de origem, quer como área de residência, e o resultado do teste de Tukey para as comparações múltiplas suscita vários tipos de comentários. O primeiro diz respeito à área de Skellefteå que, tanto considerada como área de origem como de residência, tem a média de idade de início mais baixa de todas. Na realidade, dos 30 doentes deste estudo cuja idade de início era inferior a 40 anos, 24 pertenciam a famílias originárias de Skellefteå. Por outro lado, é também na zona de Skellefteå que se conhece a maior amplitude de idades de início (Quadro 4.6). É também no outro extremo da distribuição

que há mais casos nesta área: do total de 17 doentes com início aos 75 anos ou mais tarde, 10 pertenciam à região de Skellefteå.

Quadro 4.6 A distribuição da idade de início nas diferentes zonas geográficas

	Zona de origem		Zona de residência	
	n	Média ± d.p. [amplitude]	n	Média ± d.p. [amplitude]
Skellefteå	125	54.4 ± 14.3 [26-84]	116	55.6 ± 14.1 [26-84]
Resto de Västerbotten	34	60.0 ±11.8 [35-84]	34	58.9 ±12.5 [34-84]
Piteå	47	58.8 ± 10.8 [26-75]	37	61.9 ± 9.3 [40-75]
Resto de Norrbotten	31	59.0 ± 12.1 [34-78]	39	57.3 ±12.3 [26-78]

Em qualquer dos casos, quando comparei entre si apenas as regiões de Skellefeteå e Piteå, foram encontradas diferenças significativas de idade de início quer quando consideradas como área de origem (t_{170}=2.17, P=0.03) ou, sobretudo, quando se considerou a área de residência (t_{151}=3.14, P=0.01), o que como veremos, tem implicações importantes nas estimativas da prevalência e da frequência de portadores do gene.

No entanto, estas diferenças parecem também estar associadas a um efeito de coorte. Ao considerarmos cada uma das áreas de origem, e se limitarmos a amostra aos doentes nascidos antes de 1930 (ou seja, aqueles que poderiam já ter sido detectados em 1990 com uma idade de início próxima da média geral), essas diferenças desaparecem e as médias de idade de início são de 61.8 anos para Skellefteå e 61.5 para Piteå. Este efeito de coorte detectado na distribuição da idade de início em Skellefteå provavelmente dever-se-à ao facto da primeira ter sido estudada desde há mais tempo, tendo já havido possibilidades de diagnosticar filhos de doentes.

4.4.8 A AMOSTRA PREVALENTE DE 1985

Dado que o último ano de censo que estudámos foi o de 1985, faz todo o sentido considerar a amostra dos doentes vivos nesse ano e estabelecer algumas comparações específicas entre eles. A sua distribuição por área de origem e de residência encontra-se descrita no Quadro 4.7. Curiosamente, a área de Piteå, que continua a ser a segunda mais importante em termos de origem de doentes, é ultrapassada aqui pelo resto de Norrbotten em número de doentes residentes, embora 41% daqueles sejam oriundos da região de Piteå.

Quadro 4.7 Região de origem e de residência dos doentes suecos vivos em 1985

	Residência					
Origem	Skellefteå	Resto de Västerbotten	Piteå	Resto de Norrbotten	Resto da Suécia	Total
Skellefteå	44	4	1	0	7	56
Resto de Västerbotten	0	14	0	0	0	14
Piteå	2	0	18	9	0	29
Resto de Norrbotten	3	0	1	13	1	18
Total	49	18	20	22	8	117

Em qualquer dos casos, pareceu-me apropriado manter as comparações entre as duas áreas. O Quadro 4.8 descreve a estrutura etária das duas populações e o número de doentes vivos em cada grupo etário em 1985. Embora a proporção de habitantes com menos de 25 anos seja de 32.3% em Skellefetå e de 34% em Piteå, e a de 65 anos ou mais seja de 17.4% e 15%, respectivamente, não nos parece que estas pequenas diferenças exijam uma padronização das taxas de prevalência ou incidência.

Quadro 4.8 Distribuição por grupo etário dos doentes vivos em 1985

	População de Skellefteå e Piteå em 1985							
	Skellefteå				Piteå			
Grupo Etário	População	% População Total	Nº doentes vivos	% de doentes	População	% População Total	Nº doentes vivos	% de doentes
0-29	30870	70.78	0	0.00	19513	74.19	0	0.0
30-34	5433	6.81	3	6.12	3460	7.16	0	0.0
35-39	5783	7.25	2	4.08	4042	8.36	0	0.0
40-44	5345	6.70	3	6.12	3474	7.19	0	0.0
45-49	4567	5.72	6	12.24	2744	5.68	0	0.0
50-54	4484	5.62	4	8.16	2617	5.42	2	10.0
55-59	4571	5.73	5	10.20	2637	5.46	3	15.0
60-64	4820	6.04	2	4.08	2573	5.32	3	15.0
65-69	4576	5.73	7	14.29	2195	4.54	2	10.0
70-74	3899	4.89	11	22.45	2062	4.27	6	30.0
75-79	2774	3.48	1	2.04	1573	3.26	3	15.0
80-84	1751	2.19	4	8.16	924	1.91	1	5.0
≥85	921	1.15	1	2.04	511	1.06	0	0.0
Total	79794	100	49	100	48325	100	20	100

O Quadro 4.9 compara as duas regiões quanto à idade de início, idade dos doentes em 1985 e tempo de evolução da doença. As diferenças de distribuição de idade de início já encontradas parecem ainda mais evidentes nesta amostra e podem ajudar a explicar as diferenças encontradas nas taxas de prevalência. O início mais tardio dos doentes da região de Piteå poderá também ter conduzido a uma maior dificuldade de diagnóstico ou de detecção.

Quadro 4.9 Características dos doentes vivos em 1985

	Skellefteå	Piteå
Nº doentes vivos	49	20
Idade início	53.4 ± 15.6	62.7 ± 9.9
	[26-84]	[43-75]
Idade	60.5 ± 15.2	67.3 ± 9.2
	[31-95]	[51-83]
Tempo de evolução	7.3 ± 4.8	5.4 ± 3.6
	[1-21]	[1-15]

4.4.9 AS TAXAS DE PREVALÊNCIA AO LONGO DOS ANOS

O Quadro 4.10 apresenta as estimativas das taxas de prevalência ao longo dos diferentes anos de censo (desde 1970 até 1985) e que, globalmente, passaram de 16/100000 a 32/100000. É evidente que há um melhor conhecimento da doença em anos mais recentes, o que tem levado à detecção de mais doentes, em particular fora da área de Skellefteå. De qualquer modo, ao longo do tempo, a discrepância inicial que existia entre as prevalências de Skellefteå e Piteå tem vindo a esbater-se. A proporção de doentes da área de Skellefteå na amostra de 1970 era de 63% (31 em 49), enquanto que em 1985 já era apenas de 45%.

Quadro 4.10 Taxas de prevalência por 100000 habitantes considerando a população de idade ≥ 25 anos e a área de residência

Residência	Ano de Censo							
	1970		1975		1980		1985	
Skellefteå	**62**	(31)	**80**	(41)	**98**	(52)	**91**	(49)
Resto de Västerbotten	**4**	(4)	**7**	(7)	**8**	(9)	**16**	(18)
Piteå	**19**	(5)	**46**	(13)	**49**	(15)	**63**	(20)
Resto de Norrbotten	**7**	(9)	**5**	(7)	**10**	(15)	**15**	(22)
Global	**16**	(49)	**21**	(68)	**27**	(91)	**32**	(109)

Nota: Os valores entre parêntesis indicam o número de doentes.

Se as prevalências fossem calculadas em termos de área de origem e não de residência (Quadro 4.11), tornar-se-ia ainda mais evidente a tendência para a aproximação entre Skellefteå e Piteå nos anos mais recentes.

Quadro 4.11 Taxas de prevalência por 100000 habitantes considerando a população de idade ≥ 25 anos e área de origem

Origem	Ano de Censo							
	1970		1975		1980		1985	
Skellefteå	**70**	(35)	**88**	(45)	**96**	(51)	**104**	(56)
Resto de Västerbotten	**4**	(4)	**8**	(8)	**8**	(9)	**13**	(14)
Piteå	**27**	(7)	**50**	(14)	**78**	(24)	**91**	(29)
Resto de Norrbotten	**4**	(5)	**3**	(4)	**7**	(10)	**13**	(18)
Global	**17**	(51)	**22**	(71)	**28**	(94)	**34**	(117)

Nota: Os valores entre parêntesis indicam o número de doentes.

Essa ideia parece ainda ser reforçada pela comparação da taxa de incidência ao longo de diferentes períodos de cinco anos (Figura 4.7): no último período estudado (1980-1985) a incidência média anual foi de 3.1/100000 para a região de Piteå e 4.4/100000 para a de Skellefteå.

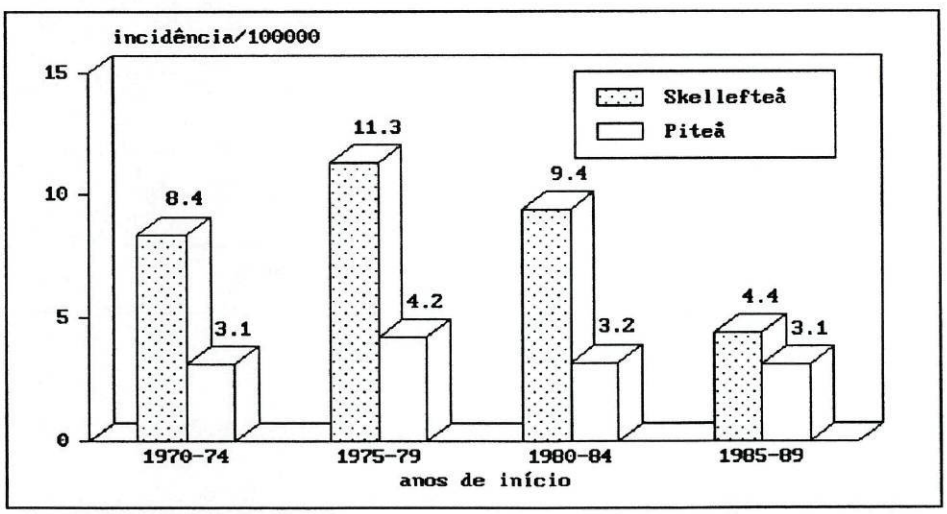


Figura 4.7 Incidência média da PAF nas regiões de Skellefteå e Piteå ao longo de diferentes anos de início da doença.

4.4.10 AS ESTIMATIVAS DA FREQUÊNCIA DE PORTADORES DO GENE

O método de Reed and Chandler, usando a estrutura etária da população geral das áreas de Skellefteå e Piteå e as diferentes distribuições da idade de início, conduziu a

estimativas da frequência de portadores do gene de 204/100000 e 284/100000 respectivamente, isto é, 1:490 e 1:352 habitantes. A proporção entre portadores manifestantes e não-manifestantes foi estimada em 1:1.9 em Skellefteå e 1:3.75 em Piteå. Isto é, em 1985, apenas 34% dos portadores do gene em Skellefteå eram já doentes diagnosticados, sendo essa percentagem de 21% em Piteå. A maior discrepância entre a frequência de portadores e a prevalência encontrada na região de Piteå poderá pois ser devida ao início mais tardio nesta região, mas também a uma menor detecção.

4.5 Discussão

4.5.1 Uma distribuição geográfica diferente da descrita por Andersson

Este estudo inclui um número de doentes já quatro vezes superior ao de Andersson[9] e evidencia uma distribuição geográfica bastante diferente da que por ele foi descrita. Nessa altura, a concentração de doentes fazia-se sobretudo na região de Skellefeteå, havendo ainda algumas famílias e doentes, não ligados àqueles, na zona interior do distrito de Västerbotten (Figura 4.3). Hoje, conhecem-se mais doentes de outras áreas, devido a uma maior divulgação da doença na população e entre os médicos. Esse melhor conhecimento está associado, por um lado, à criação da FAMY (associação de doentes), que tem organizado a divulgação da doença e campanhas pelos direitos dos doentes; por outro lado, o acompanhamento de doentes feito pelo serviço de Genética do hospital de Umeå e a possibilidade de oferecer um meio não invasivo de confirmação do diagnóstico (análise de ADN) têm também facilitado a detecção de doentes.

4.5.2 Duas concentrações de doentes: Skellefteå e Piteå

Ficou demonstrada a existência de uma segunda concentração de doentes à volta da cidade de Piteå e, ao longo do rio, até à cidade de Älvsbyn[10]. Este segundo foco da doença

era desconhecido no estudo de Andersson, onde apenas um número escasso de doentes desta região era descrito. É certo que, do total de doentes até agora conhecidos, 53% são oriundos da região de Skellefteå e apenas 20% da região de Piteå; contudo, os vários cortes transversais da amostra global feitos para diferentes anos de censo demonstraram (Quadro 4.10 e Quadro 4.11) que o peso relativo de Skellefteå na amostra global é muito inferior hoje ao que era há 20 anos atrás (Quadro 4.10) e que, em termos de prevalência, ou seja, de densidade da doença, as duas regiões se têm vindo a aproximar nos anos anteriores à recolha de dados (Figura 4.7)[10].

Este estudo encontrou importantes diferenças entre essas duas regiões no que diz respeito tanto às estimativas da frequência de portadores como à distribuição da idade de início. Embora tivesse sido em Skellefteå que se encontraram os casos de início mais precoce e os de início mais tardio, a média de idade de início é inferior à dos doentes da região de Piteå. Nesta região, a frequência do gene (2.84×10^{-3}) é superior à de Skellefteå (2.04×10^{-3}), apesar da prevalência ser superior em Skellefteå. A distribuição mais tardia da idade de início em Piteå faz com que apenas cerca de 21% dos portadores sejam, num dado momento, detectáveis (por já terem adoecido e terem sido diagnosticados), enquanto que a correspondente proporção para a região de Skellefteå era de 34%. Estas estimativas estão contudo, como vimos já, dependentes do número de doentes conhecidos, ou seja, do *ascertainment*. As diferenças de penetrância, devido a diferentes distribuições de idade de início, juntamente com uma melhoria recente na detecção de doentes de Piteå, poderão explicar as discrepâncias iniciais entre as duas áreas, mas também a sua aproximação recente em termos de incidência e prevalência[10]. Esta "perspectiva dinâmica", ou seja, o estudo ao longo de vários períodos de tempo, permitiu elaborar conclusões impossíveis de constatar se se tivesse analisado apenas uma amostra prevalente.

4.5.3 UM GENE DE ELEVADA FREQUÊNCIA E DE BAIXA PENETRÂNCIA

Uma doença que se manifesta nesta população, em média, por volta dos 57 anos, em que 25% dos doentes apresentam sintomas depois dos 68 anos de idade e em que alguns

portadores nunca chegam a manifestar sintomas, não pode deixar de ter um impacto (sobre o indivíduo, a família e a comunidade) muito diferente daquele que tem, por exemplo, na Póvoa do Varzim, em que os doentes morrem, em média, cerca dos 40 anos de idade. Este estudo demonstrou que, como nos casos portugueses, os casos isolados tinham uma média de idade de início superior à dos casos familiares. Essas diferenças traduzem apenas a expressão variável do gene em diferentes famílias: o início é por vezes tão tardio que apenas um indivíduo chega a adoecer e a ser detectado numa dada família. Outros familiares, possivelmente portadores, morrem de outras causas sem nunca terem manifestado sintomas de PAF (ou sem terem sido diagnosticados).

Os valores encontrados para a frequência de portadores, tanto em Skellefteå ($2.04x10^{-3}$) como, sobretudo, em Piteå ($2.84x10^{-3}$) são extremamente elevados para um gene responsável por uma doença dominante e, no que diz respeito à PAF, são mesmo superiores aos encontrados na região da Póvoa/Vila do Conde ($1.86x10^{-3}$) (Capítulo 3). Essa elevada frequência, associada ao isolamento da população até um passado recente, explica que se tenham encontrado três doentes homozigotos na região de Piteå (e apenas um em Skellefteå). Apesar das diferenças metodológicas no cálculo da frequência de portadores, estes resultados apontam no mesmo sentido que o estudo de Holmgren et al.[21], ao encontrar uma frequência do gene superior em Piteå mas uma prevalência mais elevada na região de Skelefteå.

A idade de início particularmente tardia faz com que apenas uma parte dos portadores sejam já, num dado momento, doentes manifestos. Esses resultados não têm qualquer valor preditivo em termos do indivíduo, ou seja, não se referem de modo algum à proporção de portadores que chega a adoecer em vida, mas sim à proporção de portadores que, num dado momento, já foram reconhecidos como tal, uma vez que já adoeceram. No seu estudo sobre a doença de Huntington no Michigan, Reed and Chandler[12] encontraram uma proporção de portadores manifestantes de 40% (numa doença em que a penetrância do gene é estimada como sendo próxima dos 100%). Resultados semelhantes foram aliás por nós obtidos em relação à proporção de portadores manifestantes da zona da Póvoa do Varzim (Capítulo 3). É importante relembrar que a PAF é uma doença do adulto e que,

num dado momento, uma parte importante da população portadora ainda não chegou a adoecer. Contudo, na Suécia há, muito mais do que em Portugal, portadores do gene da PAF que nunca chegam a adoecer, mesmo tendo morrido em idades avançadas.

4.5.4 A INVESTIGAÇÃO GENEALÓGICA E A ORIGEM DA MUTAÇÃO

Neste estudo encontrámos um grande número de casos (84) que, devido fundamentalmente ao início tardio da doença, eram clinicamente isolados, ou seja, não se conheciam familiares próximos afectados. Podemos admitir que nalguns desses casos essa classificação se devesse a uma informação familiar deficiente; mas, em muitos outros, mesmo quando a história familiar foi colhida directamente do próprio, de facto não havia quaisquer sinais anteriores da doença naquela família. Estes casos são, evidentemente, mais difíceis de investigar genealogicamente, até porque por vezes eles correspondiam também a uma certa dispersão geográfica. Um exemplo que ilustra esse tipo de dificuldades foi o facto de um doente recentemente diagnosticado na região de Norrbotten ter sido ligado a uma família americana de origem sueca[3], sem que se tivessem encontrado quaisquer ligações a outros doentes vivendo na mesma região. Desses 84 doentes, foi possível encontrar ligações familiares de grau de parentesco muito variável em 34. Os outros 50 permanecem até agora isolados. É evidente que a própria investigação genealógica é dificultada pela baixa penetrância do gene, e que a detecção futura de novos doentes poderá fornecer novos elementos para o estabelecimento de novas ligações familiares. Um exemplo disso é que, dos dezoito doentes descritos por Andersson como isolados, seis já não o são hoje, dado que novos doentes foram entretanto diagnosticados nessas famílias. O uso dos registos paroquiais (tão particulares na Suécia e na Finlândia) e da base de dados em disco óptico permitiu reconstituir quatro grandes árvores familiares da região de Skellefteå, com 10 gerações e cujos antepassados mais remotos tinham nascido no século XVII (época mais antiga em relação à qual há registos)[13]. Em relação à região de Piteå, a investigação genealógica foi feita manualmente, através dos registos paroquiais, isto é, sem recurso a uma base de dados como o disco óptico utilizado para as árvores de Skellefteå; os pedigrees desta área foram construídos até metade do século XVIII. Até agora não

foram encontradas ligações entre as genealogias de Piteå e as de Skellefteå. O facto de se terem encontrado quatro grandes árvores familiares da região de Skellefteå faz pensar que possam ter ocorrido vários acontecimentos mutacionais ou, o que será mais provável, que a mutação poderá ter tido origem bastante antes dessa data, ou seja, no fim da Idade Média[13], o que não será fácil de demonstrar dado que não há registos mais antigos que possam permitir reunir aquelas genealogias. Esta hipótese parece ser de facto a mais plausível face aos resultados recentes de estudos de haplótipos, que apontam ainda para a possibilidade de uma origem mutacional comum aos casos portugueses e suecos[22].

4.6 BIBLIOGRAFIA

1 Andersson R, Kassman T. Vitreous opacities in primary familial amyloidosis. *Acta Opthal* 1968;**46**:441-447.

2 Benson MD, Cohen AS. Generalized Amyloid in a Family of Swedish Origin. A study of 426 Family Members in Seven Generations of a New Kinship with Neuropathy, Nephropathy, and Central Nervous System Involvement. *Annals Int Medicine* 1977;**86**:419-424.

3 Drugge U, Benson MD, Holmgren G, Steen L. Searching for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) in old swedish historical archives. An attempt to demonstrate some possibilities when making use of Swedish parish registers. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and Other Transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:35-39.

4 Nylander P-O, Beckman L. Population Studies in Northern Sweden. XVII. Estimates of Finnish and Saamish Influence. *Hum Hered* 1991;**41**:157-167.

5 Beckman L, Cedergren B. Population Studies in Northern Sweden.I. Variation in matrimonial migration distances in time and space. *Hereditas* 1971;**68**:137-142.

6 Nordström S. Hereditary macular degeneration - a population survey in the county of Västerbotten, Sweden. *Hereditas* 1974;**78**:41-62.

7 Waldenström J. Studies on the incidence and heredity of acute porphyria in Sweden. *Acta Genet Statist Med* 1956;**6**:122-131.

8 Andersson R. Hereditary Amyloidosis with Polyneuropathy. *Acta med scand* 1970;**188**:85-94.

9 Andersson R. Familial Amyloidosis with Polyneuropathy: A Clinical Study Based on Patients Living in Northern Sweden. *Acta med scand* 1976;**Suppl.590**:1-64.

10 Sousa A, Andersson R, Drugge U, Holmgren G, Sandgren O. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: geographical distribution,age of onset,and prevalence. *Hum Hered* 1993;**43**:288-294.

11 *Official Statistics of Sweden. Population and Housing Census: Population in Communes and Parishes (1970, 1975, 1980, 1985)*. Stockholm: National Central Bureau of Statistics, 1972; 1977,1982,1987.

12 Reed TE, Chandler JH. Huntington's Chorea in Michigan: 1. Demography and Genetics. *Am J Hum Genet* 1958;**10**:201-225.

13 Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, Sousa A. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: A pedigree analysis. *J Med Genet* 1993;**30**:388-392.

14 Drugge U. Familial amyloidosis with polyneuropathy (FAP) in Sweden - Some notes on its Historical Background. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial amyloidotic polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:1-7.

15 Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) - type I in Póvoa do Varzim/Vila do Conde (North of Portugal). *Neurop Genetics* (em publicação).

16 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**:293-299.

17 Sousa A, Coelho T, Morgado R, Coutinho P. Statistical Analysis of Factors which may influence the duration of Familial Amyloidotic Polyneuropathy Type I. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:351-355.

18 Novis SAP, André C, Cruz MW. Familial Amyloidotic Polyneuropathy of the Portuguese Type (Type I) in Rio de Janeiro, Brazil: clinical features in 127 patients from 22 families. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:263-266.

19 Ikegawa S, Yi S, Araki S, Ando Y, Miyazaki A. Reevaluation of 134 patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) in Japan, Kumamoto focus. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:675-678.

20 Munar-Quès M, Costa PP, Saraiva MJM. The Majorcan focus of Familial Amyloidotic Polyneuropathy type I. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other Transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:13-18.

21 Holmgren G, Costa PMP, Andersson C, Asplund K, Steen L, Beckman L, Nylander P-O, Teixeira A, Saraiva MJM, Costa PP. Geographical distribuition of TTR met30 carriers in northern Sweden: discrepancy between carrier frequency and prevalence rate. *J Med Genet* 1994;**31**:351-354.

22 Almeida MR, Aoyama-Oishi N, Sakaki Y, Holmgren G, Drugge U, Ferlini A, Salvi F, Munar-Quès M, Benson MD, Skinner M, Costa PP, Saraiva MJ. Haplotype analysis of common transthyretin mutations. *Hum Genet* (em publicação).

5. A VARIABILIDADE DA IDADE DE INÍCIO DA PAF EM PORTUGAL E NA SUÉCIA

5.1. INTRODUÇÃO

A variabilidade de expressão nas doenças genéticas é, como se compreende, muito superior nas doenças dominantes, em que a sua manifestação depende da presença de um só gene mutante, enquanto que nas doenças recessivas são necessárias duas cópias do mesmo gene para que a doença se possa manifestar. Parte dessa variação pode ser introduzida quer pelo outro alelo (ou isolalelos, se houver mais do que uma forma de alelo normal), quer por outros genes, situados ou em loci próximos ou em loci mais distantes, quer, finalmente, pela interacção com o ambiente, uma fonte de variação sempre difícil de determinar.

Na última década têm sido descobertos novos mecanismos genéticos capazes de explicar, pelo menos em parte, alguns desvios em relação à hereditariedade mendeliana clássica, nomeadamente uma expressão diferente (de um gene autossómico) consoante a sua origem parental. A detecção do fenómeno de *genomic imprinting* no ratinho[1] -

diferentes graus de metilação dos alelos materno e paterno - tem levado ao seu estudo em várias doenças humanas[2,3], sobretudo naquelas em que já tinham sido detectadas diferenças de expressão fenotípica conforme o gene fosse herdado do pai ou da mãe[4-8].

Outra fonte de variação fenotípica pode ter a ver com a própria natureza da mutação, como no caso das mutações dinâmicas. Estas ocorrem pela expansão de uma sequência repetitiva de uma dado trinucleotídeo, cujo número de cópias é polimórfico mas estável na população normal; no entanto, quando o número de repetições atinge um dado limiar (mutação) a sequência torna-se instável e é mais provável que novas alterações aconteçam (expansão ou contracção do número de repetições) quando o gene é transmitido de uma geração para a seguinte[9]. Este novo mecanismo genético foi primeiro descoberto no X--frágil[10-12], tendo sido confirmado em seguida na distrofia miotónica[13-15], na doença de Kennedy[16], na doença de Huntington[17], na degenerescência dentatorubropalidoluisiana (DRPLA)[18], na ataxia espino-cerebelosa SCA1[19] e, mais recentemente, na doença de Machado-Joseph[20]. Esta descoberta veio legitimar a antecipação na distrofia miotónica como um fenómeno biológico autêntico[13-15] (ver Capítulo 6) e permitir repensar a ocorrência de casos esporádicos[21,22] ou de penetrância incompleta[12,23] em algumas dessas doenças. Apesar de terem sido em geral encontradas correlações negativas entre o número de repetições e a idade de início nestas doenças[18,19,24-27], a variabilidade da idade de início só em parte consegue ser explicada por este novo mecanismo: 50% na doença de Huntington[26] e na doença de Machado-Joseph[27], cerca de 2/3 na SCA1[19]. Deverão pois existir ainda mecanismos adicionais (genéticos ou ambienciais) que permitam explicar a restante variação.

Como já referimos, a PAF tem sido fundamentalmente considerada como uma doença com um quadro clínico constante que se pode manifestar ao longo de um determinado espectro de idades de início[28]. Este capítulo procura ilustrar e quantificar essa variabilidade, demonstrar que ela é bem maior do que inicialmente suposto no que diz respeito à idade de início e à penetrância do gene, e discutir possíveis modelos genéticos compatíveis com essa variabilidade.

O problema interessante que se põe no estudo da variabilidade da PAF (como no de outras doenças de início tardio) é tentar compreender como é que o mesmo gene mutante, presente desde a concepção, se pode vir a manifestar tão tardiamente e em períodos da vida tão diferentes, ou mesmo nunca chegar a exprimir-se clinicamente. Uma particularidade adicional reside ainda no facto da expressão fenotípica ser diferente em dois dos mais importantes focos geográficos da doença, em Portugal e na Suécia, com uma média da idade de início cerca de vinte anos mais tardia nos doentes suecos.

Contudo, em virtude das descobertas bioquímicas e da genética molecular, sabemos já de antemão que, tanto em Portugal como na Suécia (as duas populações do nosso estudo), as diferenças não são à partida devidas nem à heterogeneidade de locus nem à heterogeneidade alélica, uma vez que em ambas as populações, apenas a TTR^{Met30} foi encontrada associada à PAF. Embora não tenha sido possível testar todos os casos quanto à presença da mutação no próprio ou num familiar próximo, pensamos pois poder falar de uma realidade da qual a heterogeneidade genética estará excluída Além disso, a possibilidade de confirmar a presença da mutação (tanto em indivíduos já afectados como em assintomáticos) é um precioso instrumento de trabalho que outras doenças autossómicas dominantes com início na vida adulta não têm ainda ou só muito recentemente começaram a possuir.

Será apresentada uma abordagem qualitativa, baseada sobretudo na observação detalhada dos pedigrees (uma vez que qualquer abordagem genética implica o estudo das formas de transmissão). Além disso foi feito um estudo quantitativo utilizando como modelo a variação da idade de início. Poderiam igualmente ter sido utilizadas tanto a idade de morte, como a duração da doença. Esta última é, no entanto, bastante mais constante nos diversos estudos em focos distintos da doença. A idade de morte, por ser mais objectiva, teria provavelmente tido menos problemas de definição, mas era desconhecida num número muito grande de doentes (dos quais se conhece apenas a data da última observação, quer ainda estejam vivos ou já tenham morrido); além disso, está sujeita a outros factores competitivos nem sempre fáceis de determinar.

Por isso, a idade de início, mais informativa, foi escolhida como medida da variabilidade fenotípica. O estudo da variação da idade de início entre focos, entre regiões geográficas, entre famílias, entre gerações, entre fratrias, entre sexos, entre transmissores paternos e maternos, entre descendentes de transmissores afectados ou não-afectados, poderá permitir encontrar explicações para os seus factores moduladores, quer genéticos quer ambienciais, embora não seja sempre fácil estimar o peso relativo de cada uma dessas componentes. A comparação dos dados portugueses e suecos poderá também contribuir para elucidar alguns dos mecanismos de expressão do gene da TTR: trata-se de analisar a variabilidade de expressão do mesmo gene principal em populações distintas, com fundos genéticos muito diferentes, o que constitui um desafio interessante ao estudo da interacção entre factores genéticos, e destes com factores ambienciais, na manifestação da PAF.

Por outro lado, a identificação de factores que possam explicar o aparecimento mais precoce da doença ou, inversamente, estar associados a um atraso no aparecimento dos sintomas, pode ser importante, tanto do ponto de vista de um melhor conhecimento dos mecanismos patogénicos, como, sobretudo, para o aconselhamento genético e o apoio a dar às famílias e aos indivíduos em risco.

Algumas das perguntas que se colocaram desde logo foram se a idade de início será diferente se o doente for homem ou mulher; se for originário da Póvoa do Varzim ou de Oliveira do Hospital; se tiver tido um progenitor afectado ou nenhum dos progenitores tiver manifestado sintomas; se tiver herdado a doença da mãe ou do pai; se tiver tido um progenitor ou um irmão tardio; se for heterozigoto ou se, pelo contrário, tiver herdado o gene da TTR^{Met30} de ambos os progenitores.

Assim, apresentam-se neste capítulo as distribuições da idade de início nos doentes portugueses e suecos, homens e mulheres, de modo a procurar detectar diferentes sub-
-grupos ou distribuições diferentes; os casos tardios e os portadores assintomáticos de idade avançada, a sua agregação familiar e a sua aglomeração geográfica; algumas das particularidades dos casos suecos, em particular os homozigotos e os doentes em que as opacidades do vítreo são o único sintoma; a influência do sexo do progenitor transmissor,

afectado ou não; e as correlações da idade de início em pares de pais-filhos ou de irmãos afectados. Procuro ainda discutir os aspectos da manifestação da PAF que pareçam constituir desvios importantes em relação ao conceito clássico de hereditariedade dominante.

5.2. SUJEITOS E MÉTODOS

5.2.1. Sujeitos

São sujeitos deste estudo os 1224 doentes diagnosticados no CEP entre 1939 e 1992 e os 239 doentes diagnosticados nos hospitais do Norte da Suécia entre 1965 e 1990 (ver Capítulo 2).

Em cada análise particular serão especificados os sujeitos que dela fazem parte.

5.2.2. Estudo da distribuição da idade de início

Para testar a qualidade do ajuste das distribuições empíricas da idade de início (ou das sub-distribuições), às distribuições teóricas foram usados o teste de Qui-quadrado, e o de Kolmogorov-Smirnov.

5.2.3. Caso intermédio, caso tardio e família tardia

As definições anteriores de *caso tardio* têm sido relativamente arbitrárias: início entre os 35 e os 50 anos[29], a partir dos 40 anos[28,30], ou o percentil 95 da distribuição da idade de início (depois dos 52 anos)[31-33]. Usei aqui como definição do *início tardio* aquele que se faz a partir dos 50 anos, e chamei *intermédio* ao que se faz entre os 40 e os 50 anos e *clássico* àquele em que o início se faz antes dos 40 anos. Contudo, por vezes usei para comparações o grupo de doentes cujo início se faz a partir dos 40 anos, ou seja, os que têm

um início não-clássico. *Família tardia*, como anteriormente[31,32] será aquela com pelo menos um caso tardio.

5.2.4. Caso isolado e portador assintomático de idade avançada

Casos isolados são todos aqueles em que não há qualquer familiar afectado conhecido (observado ou descrito), incluindo-se nesta designação mesmo os doentes em que foi encontrada a mutação quer num dos progenitores quer noutro familiar, mas em que este é assintomático.

Uma vez que definimos início tardio como o que se faz a partir dos 50 anos, defini como portador assintomático de idade avançada os indivíduos que, apesar de serem portadores comprovados do gene da TTR^{Met30}, não manifestaram quaisquer sintomas da doença até aos 50 anos.

5.2.5. Critérios de identificação do progenitor transmissor

No ficheiro informatizado original do CEP, não havia qualquer campo que pudesse indicar qual dos dois progenitores tinha transmitido a doença nem se o indivíduo tinha tido dois, um ou nenhum progenitor afectado. Contudo, essa informação constava das árvores familiares ou dos processos clínicos, que foram minuciosamente revistos, tendo sido estabelecidos critérios de classificação do *progenitor transmissor* e da sua *situação na doença* para reorganização do ficheiro.

a) Estabeleceu-se que o *transmissor* era a mãe ou o pai nas seguintes circunstâncias: 1) um dos progenitores também tinha tido PAF; contudo, o grau de certeza quanto ao seu *diagnóstico* variava conforme havia uma observação deste no CEP (*afectado*), uma descrição convincente da doença pelos filhos (*descrito*) ou uma descrição mais vaga (*suspeito*); 2) o progenitor transmissor não tinha manifestado sintomas (normalmente por morte precoce de outras causas), mas era *deduzido como transmissor* através de laços

familiares próximos; 3) nenhum dos progenitores tinha tido a doença mas um deles foi testado e era *portador assintomático* do gene da Met30, ou não era portador do gene da Met30, o que nos fazia admitir que *o outro progenitor fosse o transmissor*.

b) Quando nenhum dos progenitores tinha manifestado a doença, nenhum tinha sido testado e não havia ligação a outros doentes conhecidos, classificámos o transmissor como *nenhum*.

c) Quando ambos os progenitores eram afectados, ou um era afectado e o outro era portador assintomático, ou um era afectado e o outro estava em 50% de risco para a doença, classificámos a doença como potencialmente herdada de *ambos os progenitores*, indicando assim a possibilidade do filho ser homozigoto.

d) Quando a informação sobre os progenitores era vaga ou contraditória, classificou-se o transmissor como *ignorado* (falta de informação).

Cada doente tem portanto uma variável que identifica o transmissor e uma outra que define a situação do transmissor face à doença.

Na amostra de doentes suecos, os critérios de identificação do transmissor foram, em termos gerais, semelhantes aos já expostos para os doentes portugueses, apenas com algumas ligeiras adaptações. Se na Suécia há novas possibilidades abertas pela investigação genealógica, por outro lado a não-penetrância do gene e a sua frequência elevada na zona de Skellefteå e Piteå obrigam a alguma prudência nos casos em que o transmissor tinha sido classificado pela genealogia, mas em que havia uma distância genética muito grande em relação a qualquer outro doente (ver figura 4.4). Por isso, numa primeira análise incluimos estes transmissores (pai ou mãe) como identificados, numa segunda análise só incluimos os que tinham algum grau de parentesco próximo (1°, 2° ou 3° grau) com outros doentes. Nalgumas árvores familiares havia doentes em relação aos quais se tinham estabelecido dois caminhos possíveis para a transmissão do gene (e nenhum progenitor era afectado). Além disso, havia seis casos de homozigotia comprovada; por isso essas fratrias (total de 10 doentes) foram classificadas como tendo podido herdar o gene do pai e da

mãe: mesmo no caso de heterozigotos irmãos de homozigotos, permanece por esclarecer a origem paterna ou materna da transmissão. De todo o modo, as idades de início dos homozigotos comprovados foram tratadas à parte.

5.2.6. Correlações familiares

a) Selecção das amostras

Foi feita uma revisão completa de todas as árvores familiares com o objectivo de detectar as fratrias completas (irmãos que são filhos do mesmo pai e da mesma mãe) com pelo menos dois irmãos doentes e observados, e todos os pares de pais-filhos, ambos também observados no CEP e com idade de início conhecida. Estudámos assim 247 fratrias completas pertencentes a 189 grandes famílias, num total de 607 doentes e 227 pares de pais-filhos (454 doentes).

b) Correlações pais-filhos

As estimativas da correlação interclasse da idade de início, ou seja, a correlação entre pais e filhos foram calculadas utilizando o coeficiente de correlação de Pearson[34,35]. A hipótese nula de este coeficiente ser significativamente diferente de zero foi testada usando o teste t de Student (com n-2 graus de liberdade). Para a comparação com o valor 0.5, foi usada a transformação z de Fisher[34], depois de sortear (usando um dado) os irmãos para incluir apenas um filho para cada progenitor.

c) Correlações entre irmãos

Como primeiro método de análise, as grandes famílias foram repartidas em famílias nucleares: as fratrias foram então consideradas como independentes das grandes famílias de que provinham, ou seja, ignorou-se a possível relação genética entre elas, dado que esses graus de parentesco eram variáveis de família para família. Em segundo lugar, em cada fratria excluímos ao acaso os irmãos em número superior a dois, de modo a calcular uma outra estimativa da correlação intraclasse, baseada em pares de irmãos. Em ambos os casos, a estimativa do coeficiente de correlação intraclasse foi calculada usando um

modelo de efeitos casuais de análise de variância[34,35]; no segundo método foi usada a transformação z de Fisher[34] para testar a hipótese da correlação intraclasse ser significativamente diferente de 0.5.

d) Comparação das correlações em pares de pais-filhos e pares de irmãos

Numa segunda fase, tanto no cálculo do coeficiente de correlação pais-filhos como na correlação intraclasse, escolhemos ao acaso os irmãos a excluir, de modo a termos apenas um filho por progenitor e um par de irmãos por fratria. A comparação dos respectivos coeficientes de correlação foi feita usando a transformação z de Fisher[34].

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Estudo da idade de início nos doentes portugueses e nos doentes suecos

A) Doentes portugueses

a) A distribuição da idade de início

Dos 1224 doentes portugueses incluídos neste estudo, não foi possível determinar a idade de início em 16; os estudos da idade de início referem-se portanto a 1208 indivíduos. O Quadro 5.1 descreve as estimativas dos principais parâmetros desta variável.

Quadro 5.1 Estimativas da distribuição de idade de início em 1208 doentes portugueses

	Homens	Mulheres	Global
Dimensão da amostra	682	526	1208
Amplitude	17 – 78	20 – 74	17 – 78
Média	31.9	35.6	33.5
Desvio padrão	9.6	9.0	9.5
Moda	28	30	27 e 30
Percentil 5	22	25	23
Percentil 10	23	27	24
Percentil 25	26	30	27
Percentil 50 (Mediana)	29	33.5	31
Percentil 75	34	39	37
Percentil 90	46	47	47
Percentil 95	55	54	54

A distribuição da idade de início é muito característica (Figura 5.1), apresentando uma porção central principal estreita (entre os 20 e os 40 anos principalmente) seguida de uma longa cauda para a direita onde se acumulam os casos de início intermédio ou tardio.

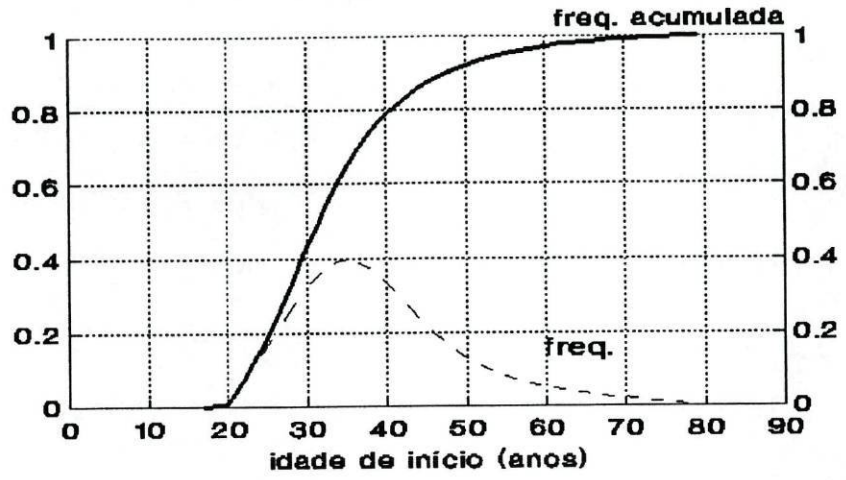


Figura 5.1 Distribuição da idade de início em 1208 doentes portugueses

De notar que há 19.2 % de casos não-clássicos (início a partir dos 40 anos) e 7.9 % de tardios (a partir dos 50 anos).

Para a assimetria à direita da distribuição da idade de início contribui a conjugação de dois factores: um é de natureza histórica, tendo a ver com a caracterização inicial da PAF como uma doença monomórfica iniciando-se fundamentalmente entre os 25 e os 35 anos, que dificultou durante muito tempo o reconhecimento dos casos mais tardios; o outro tem a ver com um efeito de coorte, ou seja, com o peso na amostra de doentes nascidos em décadas mais recentes, que, para já terem sido detectados, é porque tiveram um início precoce. Por isso, a distribuição da idade de início com base nos doentes conhecidos (ou seja, os portadores que já manifestaram) é necessariamente uma amostra enviesada, mostrando uma falha de casos mais tardios. A totalidade dos doentes desta amostra nasceu entre 1887 e 1969 e adoeceu entre 1925 e 1992; a natureza do enviesamento produzido por considerarmos todos os doentes é pois por demais evidente: os doentes nascidos em anos mais recentes, por exemplo depois de 1952, só poderão fazer parte da nossa amostra se tiverem adoecido e tiverem sido detectados até aos 40 anos. Ou seja, os casos tardios

pertencem necessariamente a coortes mais remotas. Na realidade, a média de idade de início dos doentes nascidos depois de 1952 é apenas de 27.8 (d.p. 3.6 anos, amplitude 20--37), contra 33.5 da amostra global. As coortes mais recentes contribuem assim para um exagerado número de casos de início precoce: de um total de 124 doentes com início antes dos 25 anos, 56 (45%) nasceram depois de 1952.

Por outro lado, a dificuldade de reconhecimento dos casos mais tardios, o facto de alguns tardios ainda não terem tido tempo de se manifestar e a circunstância dos portadores assintomáticos de idades mais avançadas estarem sujeitos a morrer de outras causas, antes de chegarem a adoecer, são algumas das explicações para a cauda direita da distribuição apresentar um défice de casos tardios.

b) Ajuste da distribuição da idade de início a distribuições conhecidas

A distribuição global da idade de início, bem como a sua distribuição por sexo, não se ajustam à distribuição Normal ou à Log-Normal. Os testes de ajuste (Qui-quadrado ou Kolmogorov-Smirnov) conduziram todos a valores da prova muito próximos de zero.

c) Uso da amostra truncada e correcção para o efeito de coorte

O efeito de coorte na idade de início poderá ser parcialmente corrigido se considerarmos a sub-amostra dos doentes nascidos antes de 1952, ou antes de 1942, ou seja, os que poderiam ter manifestado a doença até aos 40, ou aos 50 anos, respectivamente. Contudo, apesar das médias das distribuições truncadas serem superiores à média global (Quadro 5.2), elas continuam a ser assimétricas à direita (dados não-mostrados) e não se ajustam ainda nem à distribuição Normal nem à Log-Normal.

Quadro 5.2 Estimativas da idade de início na distribuição truncada para doentes portugueses

	Idade de início (anos)		
	Ano nascimento ≤ 1969	Ano nascimento ≤ 1952	Ano nascimento ≤ 1942
Nº de doentes	1208	933	569
Amplitude	17-78	17 – 78	19 – 78
Média	33.5	35.2	37.8
Desvio-padrão	9.5	10.1	11.4
Mediana	31	33	35
Moda	27 e 30	30	30

d) As diferenças entre os sexos

Em todos os estudos anteriores foi notada a predominância de doentes do sexo masculino, embora as diferenças se tenham vindo a esbater ligeiramente (Quadro 5.3).

Quadro 5.3 Características dos doentes portugueses em diferentes estudos

Estudo (ano)	Total doentes	Total famílias	H	M	Razão H/M	Média da idade de início [amplitude]	Média da idade de início homens	Média da idade de início mulheres
Andrade (1952)	64	25	42	22	1.9			
Ribeiro do Rosário (1961)	29		19	10	1.9			
Becker (1964)	29		19	10	1.9	[15-60]	33	44
Andrade (1969)	249		153	96	1.6			
Coutinho (1980)	483		315	168	1.9		31	33
Sousa (1988)	895	476	526	369	1.4	32.4 [17-73]	31.6	33.6
Sequeiros (1990)	1072		625	447	1.45	32.9 [17-73]	31.7	34.8
Este estudo	1224	484	687	537	1.3	33.5 [17-78]	31.9	35.6

De acordo com os resultados de estudos anteriores[28,32,36], também neste estudo foram encontradas diferenças nas médias da idade de início, que são também significativamente mais precoces nos homens (31.9 anos) que nas mulheres doentes (35.6 anos); t_{1206}= -6.8, P≈ 0 (Figura 5.2).

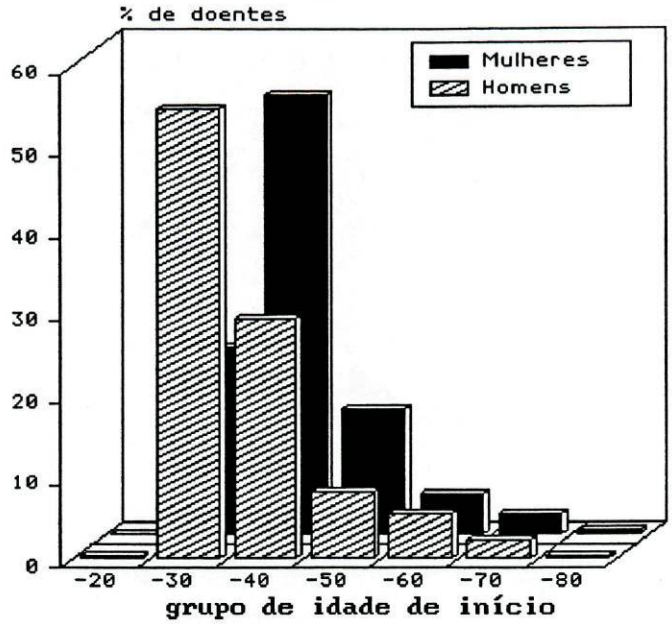


Figura 5.2 **Distribuição da idade de início por sexo nos doentes portugueses**

Considerando agora os diferentes grupos de idade de início e a proporção de homens e mulheres doentes em cada um deles (Quadro 5.4), os homens são em proporção superior nos grupos extremos (início antes dos 30 anos ou depois dos 50), enquanto que nos grupos com início entre os 30 e os 49 há uma maior proporção de mulheres.

Quadro 5.4 **Distribuição dos doentes segundo a idade de início e o sexo (doentes portugueses)**

	Idade de início do doente (anos)					
Sexo do doente	17-29	30-39	40-49	50-59	60-78	Total
Homens	375	198	55	37	17	682
Mulheres	121	282	81	26	16	526
Total	496	480	136	63	33	1208

O excesso de homens nos grupos extremos pode ser justificado por duas razões: nos grupos mais jovens deve-se ao início mais precoce no sexo masculino (havendo ainda, nessas idades, poucas mulheres atingidas). Nos grupos mais velhos, a maior proporção de homens deve-se (como adiante se verá) ao maior número de mulheres assintomáticas em idades avançadas (mais mulheres do que homens nunca chegam a manifestar a doença).

e) Os estudos da idade de início ao longo do tempo

O Quadro 5.3 descreve também as características da idade de início dos doentes portugueses em estudos anteriores. É curioso notar que a média global da idade de início tem vindo a subir ligeiramente. Contudo, a comparação destes resultados com os de estudos anteriores põe em evidência que, enquanto não houve grandes alterações na média de idade de início nos homens (pelo menos nos dois estudos anteriores a este), nas mulheres a média de idade de início tem vindo a subir. As diferenças no tempo observadas nas médias da idade de início dever-se-ão então a um aumento da detecção dos caso de início mais tardio, mas também ao facto de haver mais indivíduos que chegam vivos àquelas idades, para o que contribui sem dúvida a maior longevidade do sexo feminino.

B) Doentes suecos

a) A distribuição da idade de início

A Figura 5.3 demonstra bem as diferenças entre as duas distribuições (doentes portugueses e doentes suecos), que parecem imagens em espelho.

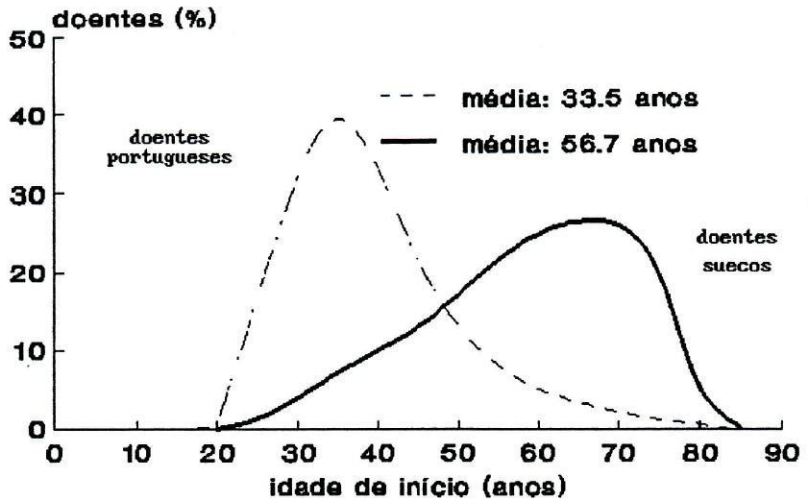


Figura 5.3 **Distribuição empírica da idade de início em 1208 doentes portugueses e em 237 doentes suecos**

Por sua vez, a distribuição cumulativa (Figura 5.4) evidencia as diferentes probabilidades de adoecer até uma dada idade para os doentes portugueses e suecos: enquanto que cerca de 81% dos doentes portugueses adoece antes dos 40 anos, a probabilidade correspondente para um doente sueco é apenas cerca de 13%.

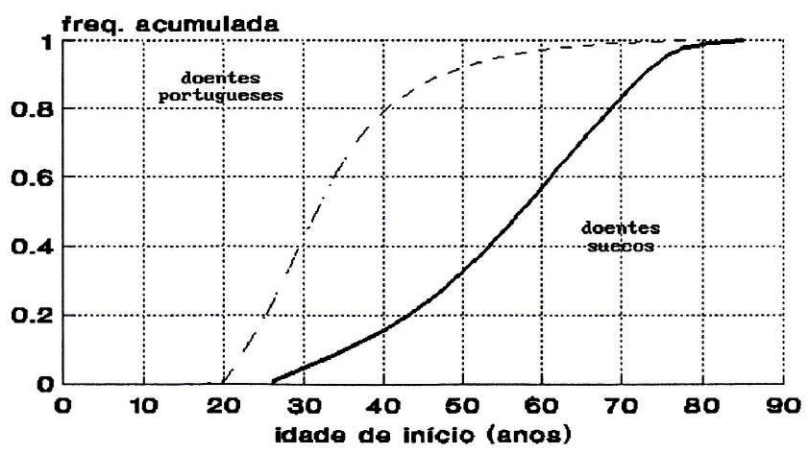


Figura 5.4 **Distribuição acumulada da idade de início em 1208 doentes portugueses e 237 doentes suecos**

b) As diferenças entre os sexos

A predominância de doentes do sexo masculino (Quadro 5.5) é aqui ainda maior (156 homens e 81 mulheres, numa proporção de 1.9:1), reflectindo-se em todos os grupos de idade de início.

Quadro 5.5 Distribuição dos doentes segundo a idade de início e o sexo (doentes suecos)

	Idade de início (anos)					
Sexo do doente	26-39	40-49	50-59	60-69	70-84	Total
Homens	17	20	44	45	30	156
Mulheres	13	18	19	12	19	81
Total	30	38	63	57	49	237

No entanto, as mulheres estão particularmente sub-representadas nos grupos com início entre os 50 e os 70 anos, enquanto que no grupo de início mais precoce a sua proporção é mais próxima da dos homens. Não se encontraram as diferenças significativas de médias de idades de início nos dois sexos verificadas nos doentes portugueses (t_{235}=1.32, P≈0.20).

5.3.2. Diferenças de expressividade e penetrância, e algumas particularidades da idade de início em Portugal e na Suécia

Nesta secção serão ilustrados vários aspectos particulares da variabilidade fenotípica, sendo sabido que muitas vezes é o estudo dos casos extremos ou menos comuns que melhor pode permitir uma interpretação da variação na penetrância dependente da idade e identificar factores que modulam a expressão do gene mutante.

A) Doentes portugueses

A-1) Casos tardios

a) Algumas das questões levantadas pelo início tardio

O problema interessante que se nos coloca é saber como é que a mesma mutação se pode manifestar em idades tão diferentes, ou seja, estudar o que poderá acelerar ou atrasar a manifestação dos sintomas. Por outro lado, no que diz respeito às manifestações clínicas destes casos, tem sido afirmado que, no fundamental, ao longo de um espectro muito variável de idades de início, é afinal a mesma doença que se manifesta[28], se bem que de forma mais benigna e de progressão mais lenta nos casos mais tardios[29,33]. Contudo, alguns estudos mais recentes parecem apontar para o surgimento de quadros clínicos ligeiramente diferentes (diferentes frequências de nefropatia[37] ou de opacidades do vítreo[38]) associados a idades de início mais tardias.

b) Distribuição geográfica dos casos tardios

Uma questão pertinente no estudo destes casos é a sua distribuição geográfica, quer em termos de concelhos de residência, quer sobretudo em termos do seu concelho de origem. O Quadro 5.6 descreve a percentagem de casos tardios por concelho de origem.

Há concelhos em que os doentes de início tardio predominam claramente no quadro geral dos doentes desses concelhos (exemplo de Torre de Moncorvo, ou Oliveira do Hospital), ou atingem grandes proporções (caso do Porto) enquanto que os concelhos de maior concentração de doentes como Póvoa de Varzim ou Vila do Conde têm uma frequência muito mais baixa, estando mesmo ausentes, por exemplo, em Esposende.

Quadro 5.6 **Distribuição dos doentes tardios por concelho de origem da família - número total e percentagem de tardios em relação ao total de doentes do concelho.**

Distrito	Concelho de Origem	Nº total de doentes	Nº doentes tardios	(%)
Aveiro	Aveiro	1	1	100,0
	Espinho	1	-	-
	Feira	10	3	30,0
	Oliveira do Bairro	1	-	-
	Ovar	15	6	40,0
Beja	Ferreira do Alentejo	1	-	-
Braga	Amares	7	-	-
	Barcelos	165	7	4,0
	Braga	94	9	9,6
	Cabeceiras de Basto	1	1	100
	Esposende	77	-	-
	Guimarães	2	-	-
	Póvoa do Lanhoso	1	-	-
	Terras de Bouro	3	2	66,7
	Famalicão	18	1	5,6
	Vila Verde	21	1	4,8
Bragança	Bragança	1	-	-
	Freixo de Espada à Cinta	1	-	-
	Mirandela	1	-	-
	Torre de Moncorvo	2	2	100
Castelo Branco	Belmonte	1	-	-
	Covilhã	42	7	16,7
	Fundão	1	1	100,0
Coimbra	Cantanhede	2	2	100,0
	Coimbra	7	1	14,3
	Figueira da Foz	84	2	2,4
	Montemor-o-Velho	2	-	-
	Oliveira do Hospital	6	2	33,3
	Pampilhosa da Serra	11	-	-
	Soure	5	-	-
Guarda	Figueira de Castelo Rodrigo	1	-	-
	Meda	1	-	-
	Seia	31	4	12,9
	Vila Nova de Foz Côa	3	2	66,7
Leiria	Leiria	1	-	-
	Pombal	3	-	-
Lisboa	Alenquer	2	-	-
	Lisboa	11	3	27,3
	Mafra	3	-	-
Porto	Baião	8	-	-
	Gondomar	1	1	100,0
	Maia	6	3	50,0
	Matosinhos	19	1	5,3
	Porto	59	16	27,2
	Póvoa	330	3	0,9
	Santo Tirso	3	-	-
	Vila do Conde	94	3	3,2
	V.N.Gaia	10	4	40,0
Santarém	Alpiarça	2	-	-
	Cartaxo	2	-	-
Setúbal	Almada	1	-	-
	Montijo	1	-	-
Viana do Castelo	Caminha	1	-	-
	Paredes de Coura	4	2	50,0
	Viana do Castelo	9	-	-
Vila Real	Mesão Frio	1	-	-
	Sabrosa	1	-	-
Viseu	Carregal do Sal	1	1	100,0
	Nelas	2	-	-
	Santa Comba Dão	3	-	-
	Tondela	5	1	20,0
	Viseu	7	1	14,3
Madeira	Funchal	1	1	100,0
	Ponta do Sol	2	1	50,0
	Total	1213	95	

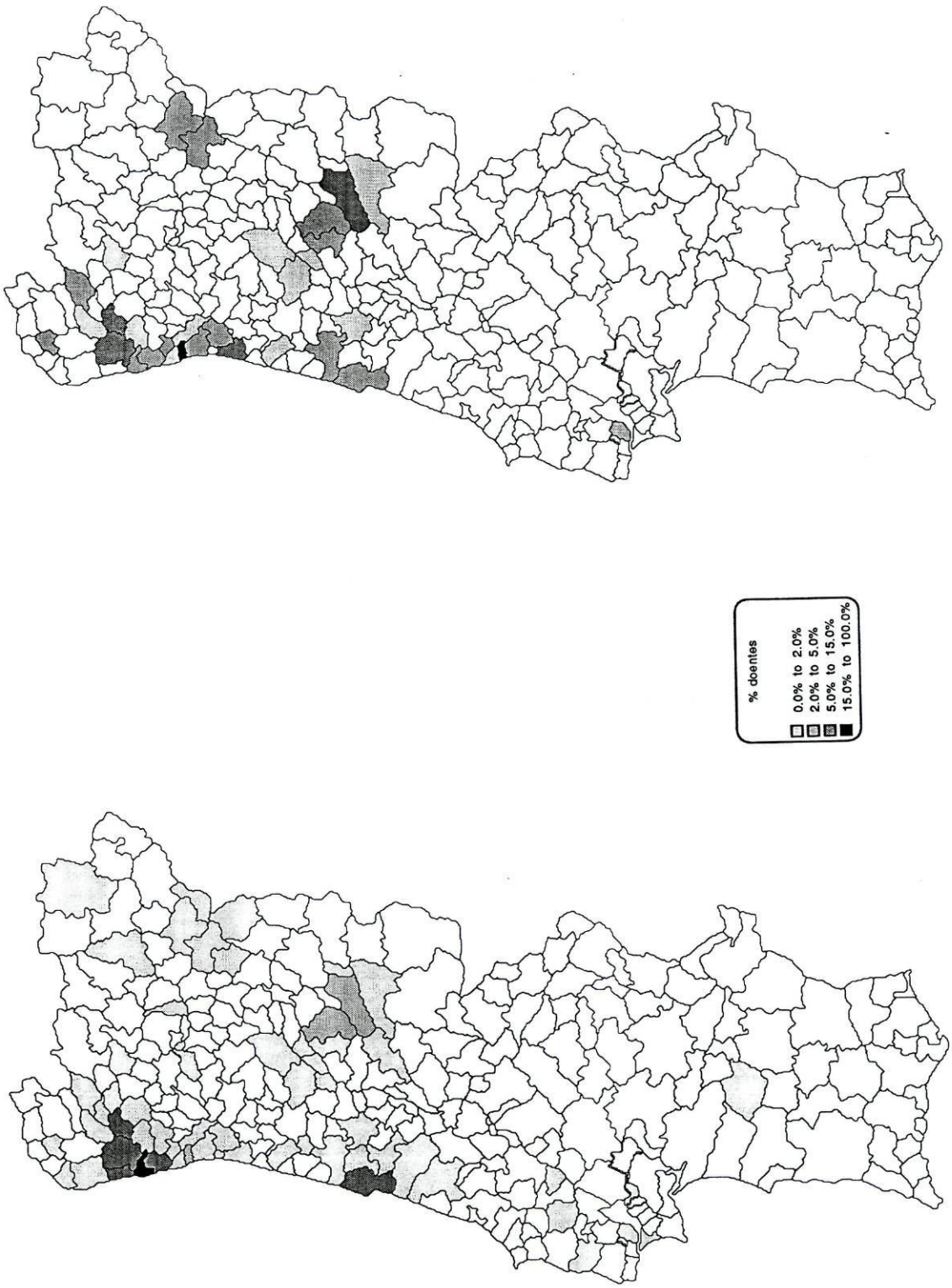


Figura 5.5 Distribuição geográfica do total dos doentes (esquerda) e dos doentes de início tardio (direita) segundo o concelho de origem

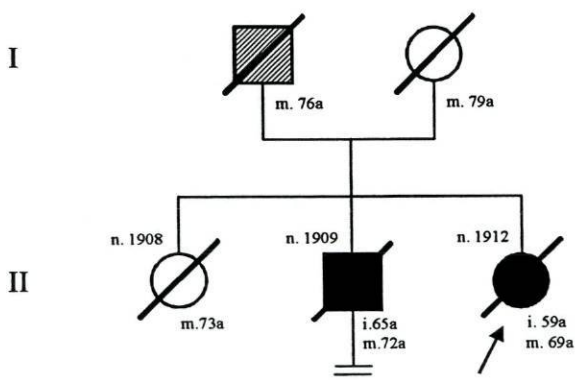
A Figura 5.5 descreve também a distribuição geográfica dos doentes de início tardio e dos doentes de início clássico segundo o seu concelho de origem. Apesar de haver concelhos de que são originárias tanto famílias clássicas como famílias tardias, estas parecem sobretudo ter origem em alguns concelhos específicos, distintos dos de maior prevalência da doença, onde se concentram sobretudo casos clássicos. Este padrão sugere que o início tardio possa estar associado a fundos genéticos diferentes dos que existem nos concelhos de maior concentração da doença.

c) A agregação familiar dos casos tardios

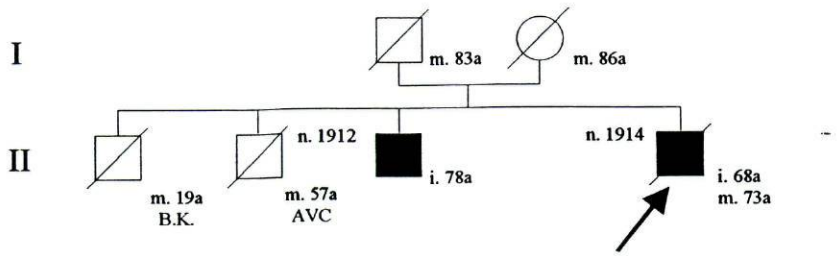
Em estudos anteriores[30-33], foi já posta em evidência a agregação familiar dos casos tardios, através da observação detalhada de algumas das suas árvores familiares. Os 96 doentes tardios incluídos neste estudo pertencem a 81 famílias distintas; em 68 a presença da mutação foi confirmada em pelo menos um dos seus membros. Apresentarei aqui uma selecção dessas famílias tardias, procurando descrever e sistematizar algumas das suas particularidades. Sempre que possível, tentarei também quantificar os diferentes tipos de ocorrências.

1) Em 10 destas famílias, há na mesma fratria dois doentes com início tardio. (Família 5.1, Família 5.2 e Família 5.3).

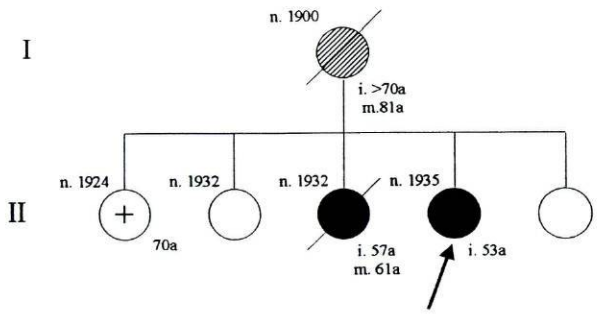
Família 5.1



Família 5.2

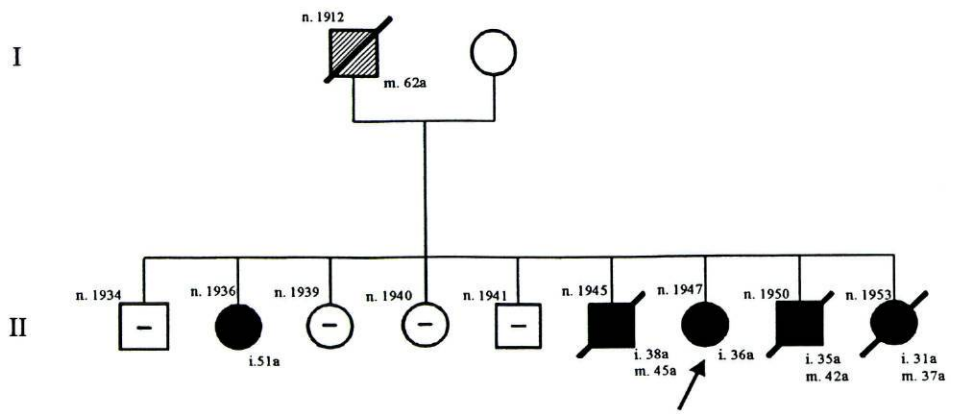


Família 5.3

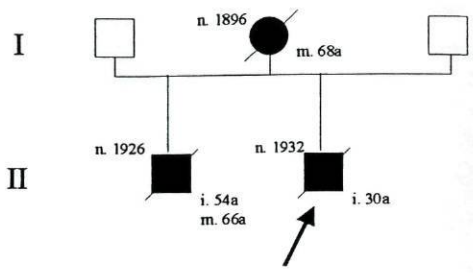


2) Em duas famílias, encontrou-se início tardio no irmão mais velho e início clássico no mais novo (Família 5.4), ilustrando assim a possibilidade de grandes discrepâncias de idade de início dentro da mesma fratria. O mesmo se observou também, naturalmente, em meios-irmãos (Família 5.5).

Família 5.4

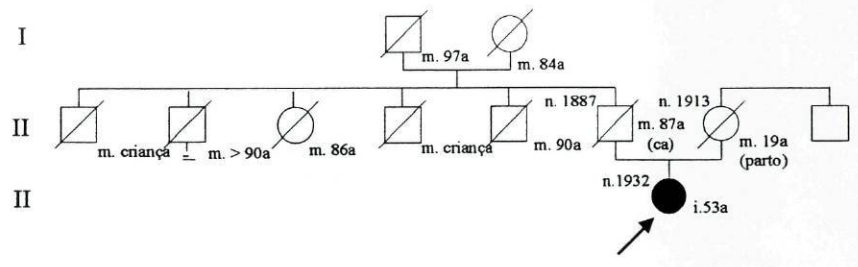


Família 5.5



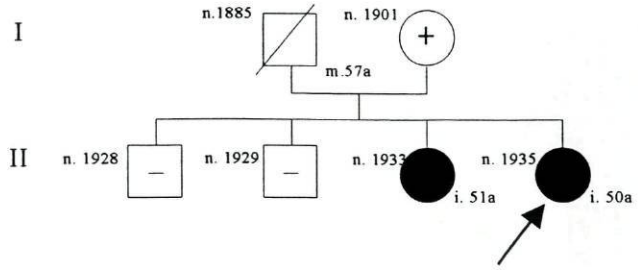
3) Em algumas famílias (Família 5.6), um dos progenitores dos casos tardios pode não ter sido afectado e ter morrido precocemente de outras causas.

Família 5.6

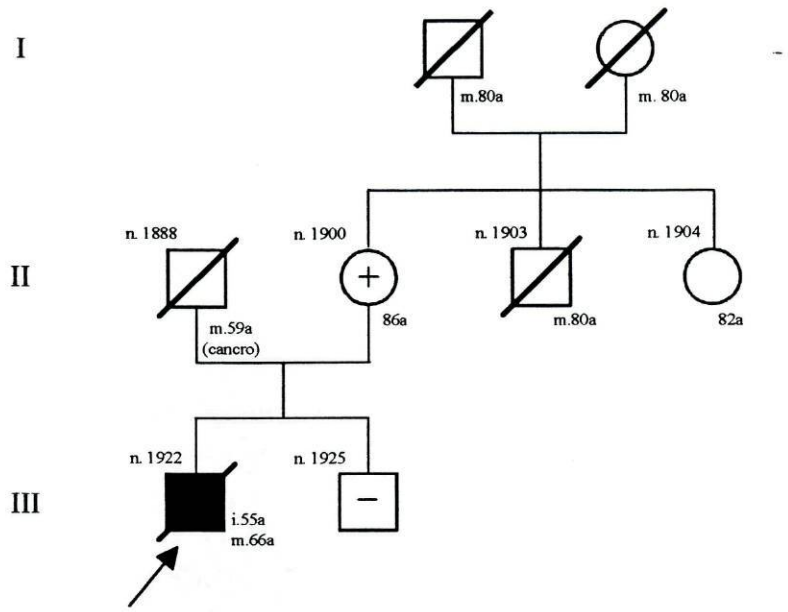


4) Contudo, 19 tardios tinham tido um transmissor também ele próprio tardio (Família 5.3, Família 5.1 e Família 5.4); em 5 o transmissor era um portador assintomático (comprovado) de idade avançada (Família 5.7 e Família 5.8); em 34 casos, ambos os progenitores morreram depois dos 50 anos sem qualquer manifestação da doença (Família 5.9).

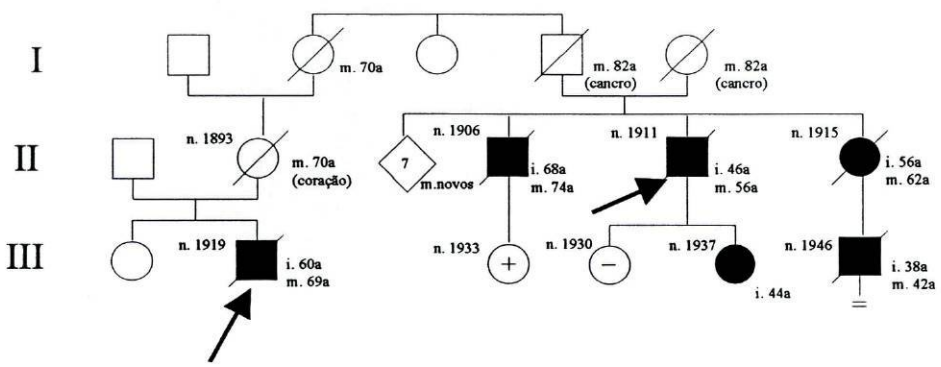
Família 5.7



Família 5.8

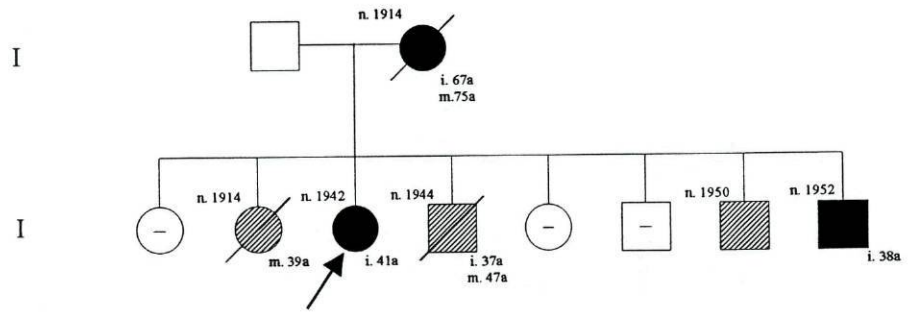


Família 5.9



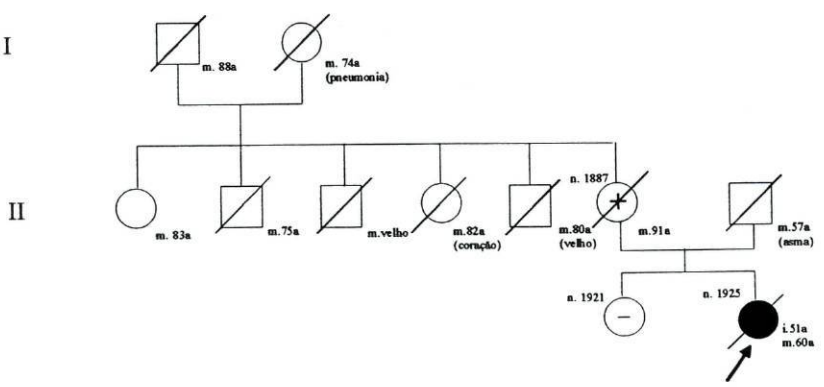
5) Não foi encontrado nenhum doente tardio que descendesse de um caso de início precoce, embora o contrário ocorra com alguma frequência, dando origem a grandes antecipações da idade de início (Família 5.10).

Família 5.10

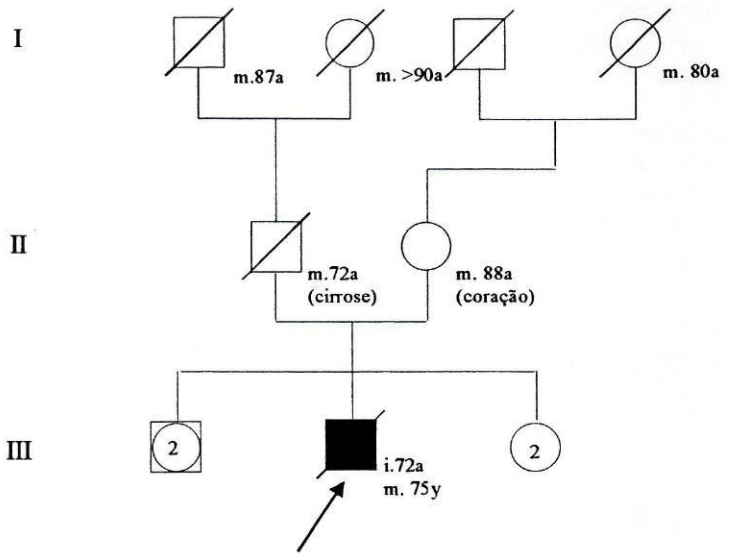


6) Os casos tardios aparecem frequentemente como isolados, ou seja, sem qualquer outro doente na família (26 doentes tardios em 67 isolados - 39% - e 27% isolados entre os tardios). Em relação a dois tardios isolados foi possível provar que não representam novos acontecimentos mutacionais, já que um dos progenitores era portador assintomático da mutação (Família 5.8 e Família 5.11); em relação a outros, há a assinalar a morte dos progenitores em idades avançadas (Família 5.12 e Família 5.13).

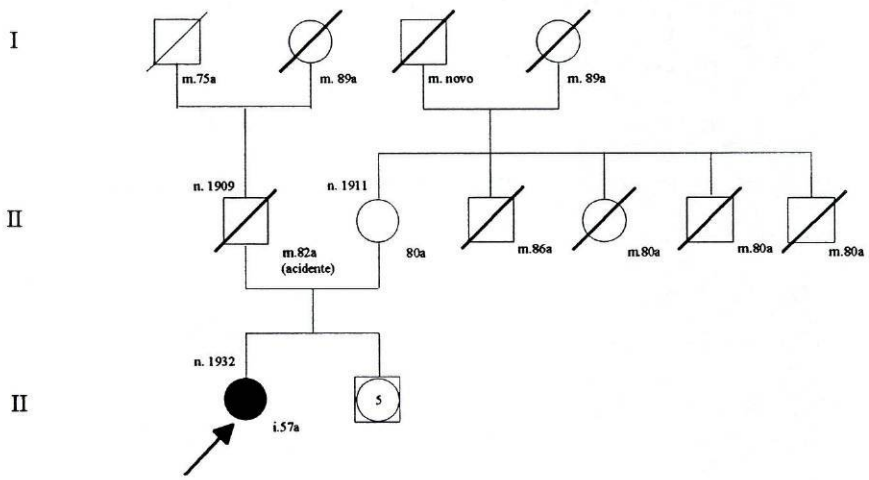
Família 5.11



Família 5.12



Família 5.13



7) A relação entre a idade de início tardia e as idades de morte dos progenitores encontra-se descrita no Quadro 5.7, tornando-se mais evidente que há famílias claramente protegidas da manifestação da doença, em que se agregam casos tardios e progenitores assintomáticos de idade avançada.

Quadro 5.7 Idades de morte ou à data da última observação dos progenitores transmissores dos doentes tardios

Transmissor		Situação do transmissor	
		Afectado	Não-afectado
Mãe	Número total	9	12
	Número de mães que viveram até aos 50 anos	9	11
	Número de mães que viveram até aos 80 anos	2	6
	Média de idade de morte ou à data da última observação	67 [51-81]	80 [60-92]
Pai	Número total	10	10
	Número de pais que viveram até aos 50 anos	10	8
	Número de pais que viveram até aos 80 anos	1	4
	Média de idade de morte ou à data da última observação	72 [62-84]	79 [70-88]

Conclusão:

A existência de portadores assintomáticos de idades muito avançadas nalgumas famílias tardias, bem como as idades de morte muito tardias observadas em diversas dessas famílias, tanto nos progenitores afectados dos doentes tardios, como nos progenitores ou outros familiares não-portadores, apontam para a hipótese de factores genéticos associados à longevidade possam interactuar com o gene da TTR, retardando o aparecimento dos sintomas na PAF.

A-2) Os casos sem doença no progenitor e os casos isolados

Já desde as primeiras descrições da PAF foram feitas referências a casos em que a doença não era conhecida em qualquer outro familiar, em particular em nenhum dos progenitores[39,40], tendo mesmo Becker[40] discutido o problema da não-penetrância do gene. Contudo, em face da penetrância completa observada na maioria das famílias, a sua importância no conjunto dos doentes portugueses foi até há pouco tempo relativizada.

O estudo sobre os casos sem qualquer manifestação conhecida de doença em nenhum dos progenitores[41] teve vários objectivos. Por um lado procurou avaliar em que medida é que a ausência de história familiar nos pais dificultou ou atrasou o diagnóstico, o que era uma preocupação de ordem clínica. Por outro lado abordou vários problemas da genética

da PAF: discutiu em que medida é que esses casos poderiam representar novos acontecimentos mutacionais e comparou esta amostra com o grupo de doentes que tinham tido um progenitor afectado, estudando fundamentalmente a origem geográfica e as idades de início nos dois grupos de doentes.

Concluiu-se que estes casos são, em média, mais tardios (45.1 anos) do que os que tiveram um progenitor afectado (31.2) e que as famílias a que pertenciam tinham origem, em geral, em áreas distintas das de maior prevalência da doença. Foram aliás estas características, associadas com a ausência de história familiar, que estiveram na origem da sua demora de diagnóstico, e não uma apresentação clínica atípica.

O estudo deu também particular atenção aos casos isolados e às circunstâncias em que eles ocorrem. Há casos em que eles poderão ser explicados pelo tamanho reduzido da família, por migração ou dispersão geográfica ou ainda pela perda de contacto com familiares. Noutros casos, parece estranho que o probando seja o único indivíduo afectado conhecido em famílias grandes e com um *follow-up* relativamente longo.

Se em relação a várias das famílias descritas nesse estudo, a manifestação da doença em mais do que um irmão tornava altamente improvável que eles pudessem representar novos acontecimentos mutacionais, essa possibilidade é muito maior nos casos isolados, que são mais difíceis de explicar. Contudo, nos sete casos em que foi possível testá-lo (situação ilustrada nas Família 5.7, Família 5.8 e Família 5.11), descobriu-se que um dos progenitores dos casos isolados (1 pai, 6 mães) era afinal portador não-manifestante do gene da TTR. Este resultado é extremamente importante, pois embora não se exclua a hipótese de ocorrência de mutações *de novo*, o certo é que até agora não foi possível demonstrar a sua existência, dado que em nenhuma circunstância se verificou que os progenitores de um caso isolado fossem ambos não-portadores do gene. Apenas em 7 dos doentes isolados foi possível detectar o progenitor transmissor porque este foi testado e era portador do gene: seis tinham herdado o gene da mãe e apenas um do pai. Este resultado deve ser interpretado com alguma cautela, dado a reduzida dimensão da amostra. A manter-se num número maior de doentes, confirmaria a hipótese de Becker de que mães

portadoras não-manifestantes do gene pudessem ser as principais transmissoras dos casos isolados[40].

A-3) Os portadores assintomáticos de idade avançada

No conjunto das famílias registadas no CEP, encontrámos ainda 38 portadores comprovados do gene da TTR^{Met30}, que tinham pelo menos 50 anos de idade à data da última observação em que foram considerados assintomáticos.

Destes indivíduos, 22 eram mulheres e 16 eram homens, numa razão de 1.4:1, o que faz supor que a protecção de que parecem usufruir alguns dos portadores da mutação é maior nas mulheres. Entre esses 38 sujeitos, 20 distribuíam-se por 15 famílias em que havia pelo menos um doente tardio registado.

Foi possível identificar o progenitor transmissor em 20 casos: 15 tinham herdado o gene do pai e 5 da mãe. Dado que a proporção de portadores masculinos cujo transmissor foi identificado (11 em 16) é muito superior à das portadoras (9 em 22) não é legítimo tirar conclusões sobre o possível efeito conjunto do sexo do transmissor e do sexo destes portadores.

Nos 12 casos em que havia confirmação (2) ou descrição (10) da doença no progenitor, este ou tinha tido um início tardio ou uma morte em idade já avançada. *Não se encontrou nenhum portador assintomático de idade avançada cujo progenitor tivesse tido um início clássico.*

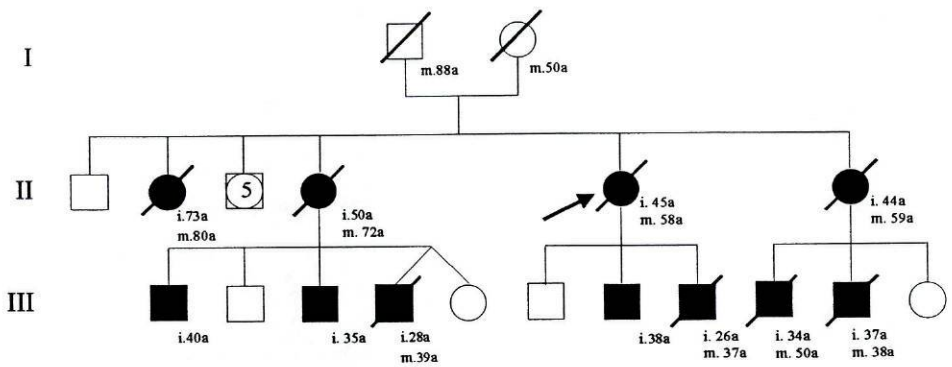
B) Doentes suecos

Na sua tese de doutoramento[42], Andersson tinha posto claramente em evidência, pela primeira vez, as diferenças de expressividade entre diferentes famílias, tanto no que diz respeito à idade de início, como à progressão da doença e ao restante quadro clínico.

Algumas dessas diferenças de idade de início e duração, quer entre famílias diferentes, quer dentro da mesma família, poderão ser ilustradas pelos pedigrees que se seguem, em que o problema da penetrância incompleta será também tratado.

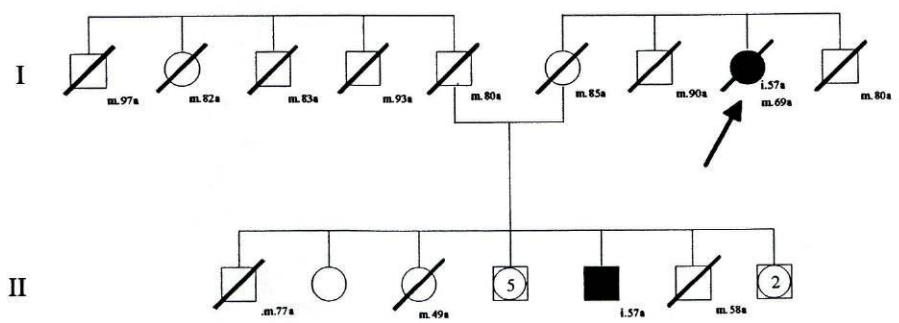
B-1) Variação entre famílias

Família 5.14



Não existe qualquer descrição de doença na 1ª geração; embora o indivíduo I.1 esteja ligado genealogicamente ao pedigree SK1[43], morreu aos 88 anos sem sintomas expressos. É uma das famílias de penetrância quase completa que se podem encontrar na Suécia. De notar contudo que as idades de início e de morte são mais baixas na 2ª geração do que na 1ª e as discrepâncias de idade de início dentro da mesma fratria.

Família 5.15



Para além da não-penetrância do indivíduo I.6. em idade já avançada (apesar de ser irmã e mãe de doentes), há ainda a assinalar as idades de morte também tardias no ramo

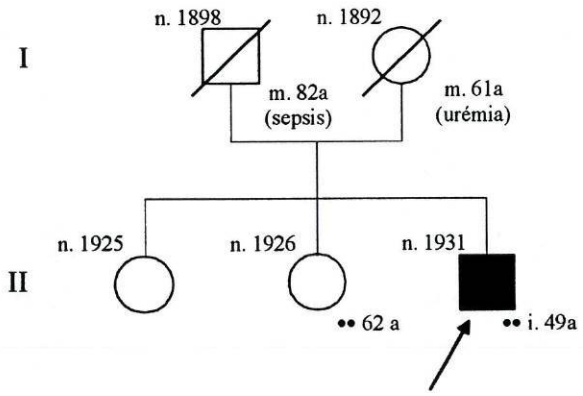
não-afectado da família, o que reforça a possibilidade da interferência dos genes do envelhecimento na expressão do gene da PAF.

B-2) Os homozigotos

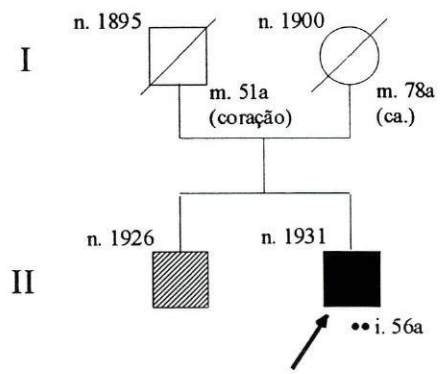
Se é pouco comum serem encontrados homozigotos numa doença autossómica dominante, o facto deles terem idades de início semelhantes aos heterozigotos, encontrado por exemplo na doença de Huntington[44,45], é porém raro.

Vale por isso a pena descrever com algum pormenor estes doentes (que são indicados por ••) e as suas famílias (Família 5.16-5.21), dos quais alguns já foram descritos[38,46]:

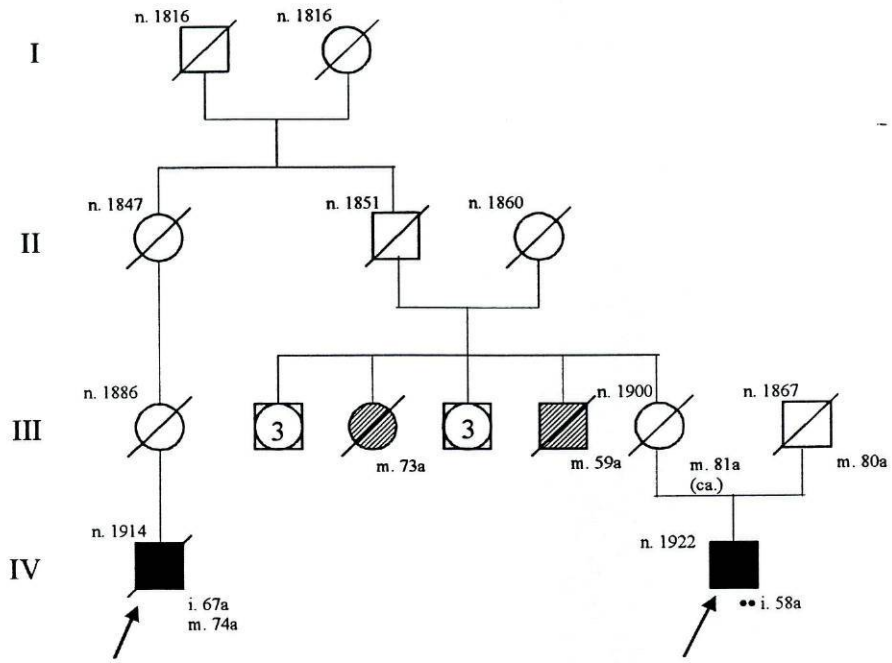
Família 5.16



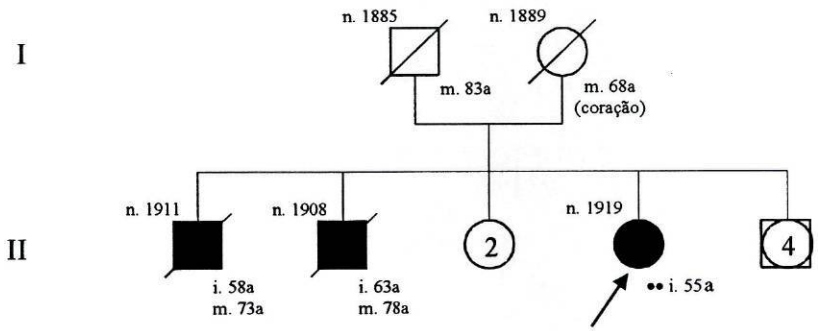
Família 5.17



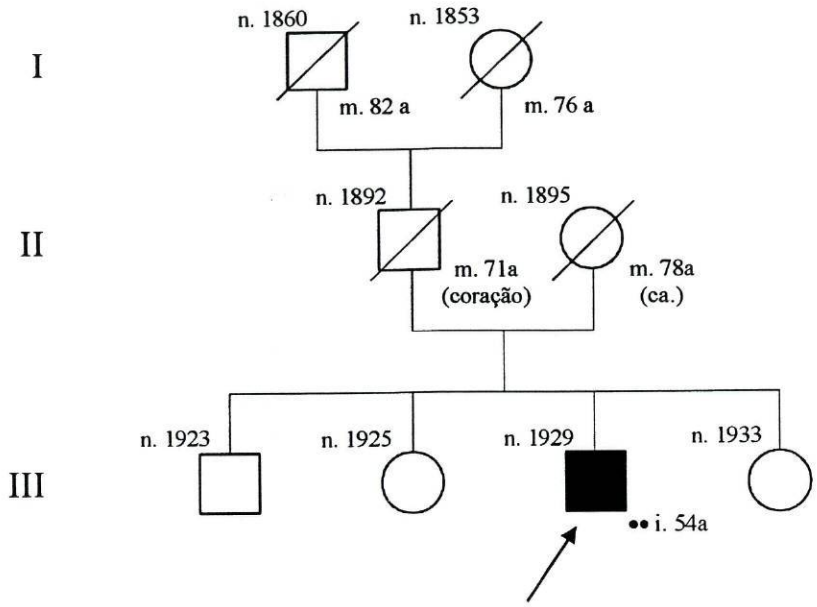
Família 5.18



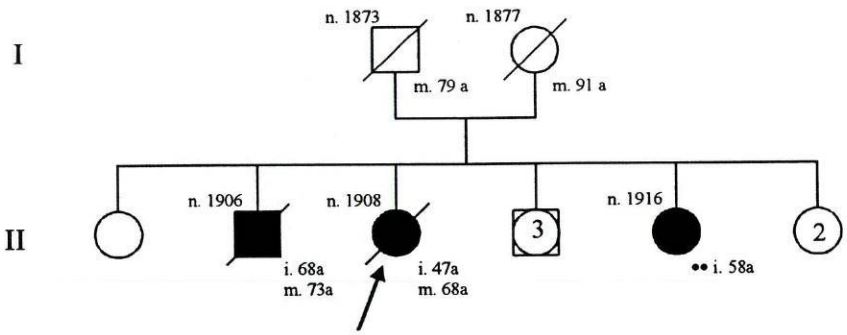
Família 5.19



Família 5.20



Família 5.21



a) as idades de início dos doentes homozigotos variam entre 49 e 58 anos; porém, foi ainda detectada homozigotia numa irmã de um destes doentes, que se encontrava ainda assintomática aos 62 anos de idade[46] (indivíduo II.2 da Família 5.16).

b) todos os doentes homozigotos apresentavam opacidades do vítreo, que em 2 tinha mesmo sido o sintoma inicial da doença[38] (Família 5.17 e 5.19).

c) em nenhum destes doentes havia descrição da doença nos progenitores, sendo alguns semelhantes a outros casos isolados (Família 5.20).

B-3) As opacidades do vítreo

Já desde as primeiras descrições da PAF na Suécia[47] Andersson tinha chamado a atenção para a importância das manifestações oculares no diagnóstico da PAF e na sua tese descreve 2 doentes (em 60) cujas primeiras manifestações foram opacidades do vítreo.

Num estudo mais recente[38] são revistos 115 doentes com uma observação oftalmológica, dos quais 31 manifestavam claramente opacidades do vítreo e foi demonstrada a agregação familiar desse tipo de manifestação. Verificou-se ainda que o conjunto dos doentes (16) cuja primeira manifestação de PAF foram opacidades tinham uma distribuição de idade de início significativamente mais tardia (68.4 anos) do que os que tinham começado a doença por neuropatia (53.1 anos); $t_{113}=4.5$, $P\approx0.02$, como ilustrado na Figura 5.6.

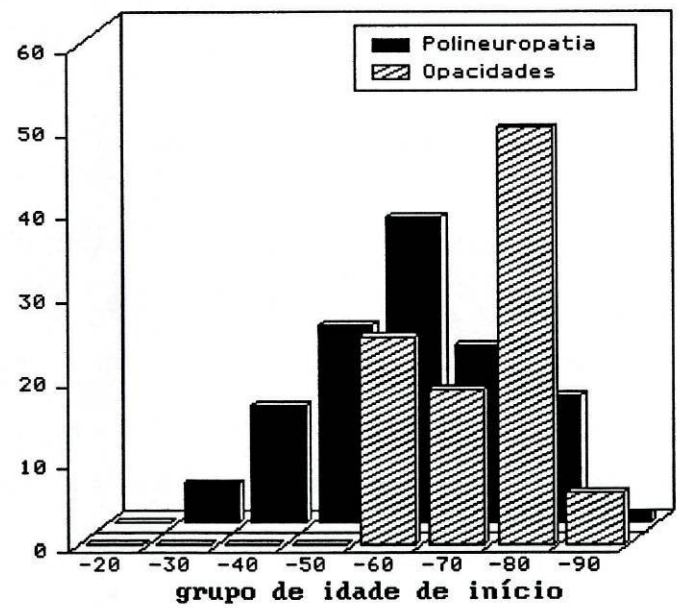


Figura 5.6 **Distribuição de idade de início nos doentes suecos segundo o modo de início (polineuropatia ou opacidades do vítreo)**

5.3.3. Sexo do progenitor transmissor

A) Doentes portugueses

No conjunto dos 1224 doentes portugueses, não foi possível identificar o transmissor da doença em 98 casos em que nenhum dos progenitores tinha sido afectado nem foi possível ligá-lo a qualquer outro doente; 481 doentes tinham herdado a doença do pai e 584 da mãe; havia ainda 11 doentes que provinham de duas famílias afectadas e em que havia a possibilidade de ambos os progenitores serem portadores do gene da PAF. Nos restantes 50 doentes, a informação era manifestamente insuficiente para permitir determinar o transmissor.

Do total de 1224 doentes, 943 (77%) tinham tido (pelo menos) um progenitor afectado e em 182 (15%) não foi possível demonstrar a manifestação da doença em qualquer um dos progenitores.

A-1) Transmissão materna e paterna

Em concordância com um nosso estudo anterior[48], verificámos também que a proporção de doentes que herdou o gene da mãe (584/1065) é significativamente mais elevada do que a que herdou a doença do pai (481/1065), ($Z= 3.16$, $P\approx 0.002$), o que é contrário às expectativas mendelianas num gene autossómico. Por outro lado, há uma inversão da "sex-ratio" na transmissão da PAF: há mais homens do que mulheres doentes, mas há mais doentes tendo herdado a doença da mãe do que do pai, o que levanta imediatamente a questão de uma *fitness* diferente para cada sexo. Na verdade, temos 375 mães transmissoras dando origem a 584 filhos doentes (média 1.6), e 339 pais transmissores com um total de 481 filhos doentes (média 1.4). Este aspecto será desenvolvido adiante (Capítulo 7).

A-2) Idade de início e sexo do progenitor transmissor

O Quadro 5.8 e o Quadro 5.9 descrevem a distribuição da idade de início dos doentes segundo o sexo do progenitor transmissor e conforme este foi ou não afectado.

Quadro 5.8 Distribuição da idade de início segundo o sexo do progenitor (transmissor afectado)

	Idade de início do doente (anos)				
Transmissor afectado	20-29	30-39	40-49	≥ 50	Total
Mãe	261	215	31	9	516
Pai	185	173	48	10	416
Total	446	388	79	19	932

No caso dos descendentes de um progenitor afectado, as idades de início mais precoces (até aos 40 anos) são mais frequentemente herdadas da mãe e as mais tardias (depois dos 40) mais frequentemente herdadas do pai (X_1^2=9.4, P≈0.002); de notar que no grupo com início depois dos 50 anos as proporções são equivalentes.

Quadro 5.9 Distribuição da idade de início segundo o sexo do progenitor (transmissor não afectado)

	Idade de início do doente (anos)				
Transmissor não afectado	20-29	30-39	40-49	≥ 50	Total
Mãe	5	15	10	12	42
Pai	5	17	9	10	41
Total	10	32	19	22	83

Quando o progenitor transmissor não era afectado, apesar da amostra ser pequena, parece haver uma tendência para a situação inversa, ou seja, mais indivíduos nos grupos mais tardios a descenderem da mãe e mais nos grupos de início mais precoce com um pai transmissor.

O Quadro 5.10 apresenta as médias de idade de início dos doentes segundo o sexo do progenitor transmissor.

Quadro 5.10 Médias de idade de início segundo o sexo do progenitor transmissor (doentes portugueses)

	Transmissor			
	Ambos heterozigotos	Mãe	Pai	Desconhecido
Média da idade de início (anos)	27.9 ± 6.2 [17-39]	31.5 ± 7.3 [19-65]	32.6 ± 8.3 [20-70]	47.2 ± 12.1 [23-78]
Nº de doentes	10	578	473	98

Os doentes que herdaram a doença da mãe têm, em média, um início mais precoce (31.4, d.p. 7.3 anos) do que os que a herdaram do pai (32.6, d.p. 8.3 anos), (t_{1049}= -2.4, P=0.015). Contudo, o grupo de doentes em que a doença era desconhecida na geração dos pais e dos avós apresenta uma média de idade de início muito mais tardia (47.2, d.p. 12.1 anos) do que todos os outros, demonstrando mais uma vez a existência de famílias mais protegidas para o efeito de gene. É também interessante notar que o grupo dos doentes que descendem de dois progenitores heterozigotos têm uma média de idade de início significativamente mais baixa que os outros grupos.

O Quadro 5.11 descreve as médias de idade de início dos doentes segundo o sexo do transmissor e a sua situação na doença (afectado ou assintomático).

Quadro 5.11 Médias de idade de início segundo o sexo do progenitor transmissor e a sua situação na doença (doentes portugueses)

	Situação do transmissor		
Transmissor	Afectado	Não-afectado	
Mãe	30.6 ± 6.4 (n=516)	41.6 ± 10.3 (n=43)	31.4± 7.3 (n=559)
Pai	31.9 ± 7.4 (n=416)	40.7± 11.9 (n=41)	32.7± 8.3 (n=457)
Total	31.2± 6.9 (n=932)	41.2± 11.0 (n=84)	

Em primeiro lugar, a média de idade de início dos descendentes de transmissores não-afectados é significativamente mais elevada (41.2) do que a dos doentes com um

progenitor afectado (31.2 anos); $t_{1014} = 8.16$, $P \approx 0$. Em segundo lugar, a diferença já encontrada entre os indivíduos que herdaram o gene da mãe ou do pai deve-se sobretudo ao grupo com um progenitor afectado (30.6 e 31.9, respectivamente; $t_{930} = 4.5$, $P \approx 0.004$), já que no grupo em que o transmissor não era afectado, embora a diferença não seja significativa, pelo menos para esta dimensão da amostra ($P > 0.60$), há uma tendência para uma média superior quando a doença é herdada da mãe (41.5) do que quando é herdada do pai (40.7 anos).

A-3) Efeito conjunto do sexo do transmissor e do sexo do próprio doente

Para o grupo com um progenitor afectado, estudámos ainda o efeito conjunto do sexo do próprio doente com o do transmissor na média de idade de início, usando um modelo de análise de variância a dois factores. Verificou-se que havia um efeito aditivo, sem interacção, do sexo do doente e do transmissor, com a seguinte tabela de médias (Quadro 5.12):

Quadro 5.12 Efeito conjunto do sexo do progenitor afectado e do sexo do doente na média da idade de início - doentes portugueses

Sexo do doente	Progenitor afectado		
	Mãe	Pai	
Homens	28.5 (n=280)	30.2 (n=240)	29.3 (n=520)
Mulheres	33.1 (n=236)	34.1 (n=176)	33.5 (n=412)
Total	30.6 (n=516)	31.9 (n=416)	31.2 (n=932)

Poderemos dizer que, em média, as mulheres doentes são mais tardias do que os homens doentes e que os doentes que herdaram o gene dos pais são mais tardios do que os que tiveram uma mãe afectada. Assim, como casos extremos, temos os doentes do sexo masculino que tiveram uma mãe afectada, mais precocemente atingidos pela doença (média 28.5), enquanto as mulheres que herdaram o gene de um pai afectado parecem mais protegidas (média 34.1 anos).

B) Doentes suecos

No conjunto dos 239 doentes suecos estudados, a informação era precária em 32; em 30 nenhum dos progenitores manifestou sintomas nem foi ligado a outros doentes; em 6 estabeleceram-se dois caminhos possíveis para a transmissão do gene (e não foi possível escolher apenas um); e em 10 casos ou havia homozigotia comprovada (6 casos), ou os indivíduos eram irmãos (não testados) de homozigotos e por isso tanto podiam ter herdado o gene do pai, como da mãe, como de ambos. Só foi possível pois identificar o transmissor em 161 casos, dos quais 92 tinham herdado o gene do pai e 69 da mãe.

Foi possível estabelecer que os doentes tinham tido um progenitor afectado em 62 casos (26%) e que nenhum progenitor tinha manifestado a doença em 109 casos (46%).

B-1) Transmissão materna e paterna

Ao contrário dos doentes portugueses, mais doentes herdaram o gene do pai (92/161) do que da mãe (69/161), numa proporção de 1.3:1. Havia 65 pais e 50 mães (numa proporção de 1.3:1), enquanto no conjunto dos doentes a razão homem/mulher era de 1.9:1. Numa segunda análise utilizámos um critério mais estrito, que consistiu em excluir os indivíduos nos quais a identificação do transmissor se tinha feito exclusivamente por ligação genealógica remota, sem qualquer grau de parentesco próximo com outros doentes: 68 tinham herdado a doença do pai e 57 da mãe (uma proporção de 1.2:1).

B-2) Idade de início e sexo do transmissor

O Quadro 5.13 e o Quadro 5.14 descrevem a distribuição da idade de início segundo o sexo do progenitor transmissor, conforme este foi ou não afectado.

Quadro 5.13 Distribuição da idade de início segundo o sexo do progenitor (transmissor afectado) - doentes suecos

Transmissor afectado	Idade de início (anos)			
	26-39	40-59	≥ 60	Total
Mãe	19	14	1	34
Pai	4	18	6	28
Total	23	32	7	62

Quadro 5.14 Distribuição da idade de início segundo o sexo do progenitor (transmissor não-afectado) - doentes suecos

Transmissor não afectado	Idade de início (anos)			
	26-39	40-59	≥ 60	Total
Mãe	—	5	18	23
Pai	2	17	21	40
Total	2	22	39	63

Como para os casos portugueses, o início mais precoce parece estar claramente associado à transmissão materna: dos 25 doentes com início antes dos 40 anos de idade (progenitor afectado ou não-afectado), 19 tinham herdado a doença de uma mãe afectada, enquanto no outro extremo, no grupo dos doentes mais tardios, havia uma maior proporção que tinha herdado o gene do pai, sobretudo se este era afectado.

O Quadro 5.15 descreve as médias de idade de início segundo o sexo do transmissor. Para a transmissão materna e paterna incluiram-se todos os casos (1° critério) e para o grupo em que ambos os progenitores são potencialmente transmissores também estão incluídos todos os doentes que são comprovadamente ou podem eventualmente ser homozigotos.

Quadro 5.15 Médias de idade de início segundo o sexo do progenitor transmissor (doentes suecos)

	Transmissor			
	Ambos heterozigotos	Mãe	Pai	Desconhecido
Média da idade de início (anos)	56.6 ± 6.1 [47-68]	51.4 ± 14.8 [26-75]	56.1 ± 11.5 [29-79]	64.4 ± 11.7 [36-84]
Nº de doentes	10	68	91	30

O grupo com início mais precoce é constituido pelos doentes que herdaram o gene da mãe e o mais tardio, como era de esperar, aquele em que nenhum dos progenitores teve a doença. É de notar, porém, que aqui os doentes potencialmente homozigotos não diferem significativamente dos que herdaram a doença do pai. Além disso, como nos casos portugueses, os doentes que herdaram o gene da mãe tiveram um início mais precoce (51.4, d.p. 14.8) do que os que herdaram o gene do pai (56.1, d.p. 11.5 anos); t_{157}= 2.18, P≈0.03, embora a distribuição dos que herdaram a doença da mãe seja bimodal (Figura 5.7).

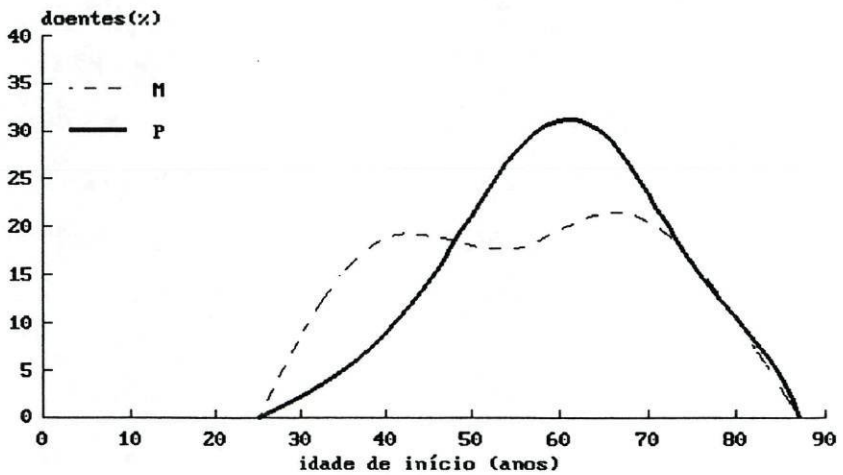


Figura 5.7 Distribuição da idade de início nos doentes suecos conforme o gene foi herdado do pai (P) ou da mãe (M).

A diferença segundo a transmissão materna ou paterna torna-se ainda mais evidente quando separámos o progenitor transmissor em afectado e não-afectado (Quadro 5.16).

Quadro 5.16 Médias de idade de início segundo o sexo do progenitor transmissor e a sua situação na doença (doentes suecos)

Transmissor	Situação do transmissor		
	Afectado	Não-afectado	
Mãe	39.7 ± 9.2 (n=34)	64.6 ± 5.8 (n=23)	48.9 ± 15.9 (n=57)
Pai	52.7 ± 11.3 (n=28)	58.7 ± 11.7 (n=40)	55.5 ± 13.5 (n=68)
Total	45.6 ± 12.0 (n=62)	60.9 ± 10.3 (n=63)	53.3 ± 13.5 (125)

A diferença de médias, que já é significativa (t_{61}= 2.18, P≈0.03) para descendentes de um pai (58.7) ou de uma mãe não-afectados (64.6), é contudo muito significativa entre descendentes de um pai (52.7) ou de uma mãe afectados (38.5) (t_{60}= 4.25, P≈0.002). Ou seja, se a doença for herdada do pai é quase indiferente se este foi ou não afectado, enquanto que ter tido a mãe afectada traduz-se num início cerca de 25 anos mais precoce do que se a mãe nunca manifestou sintomas.

5.3.4. Variação e correlações intrafamiliares da idade de início

A) Doentes portugueses

A-1) Correlações pais-filhos

Na primeira análise, em que usámos os 227 pares de pais-filhos (em que por isso os 145 progenitores estão repetidos), o coeficiente de correlação de Pearson estimado foi de 0.365, o que era significativamente diferente de zero (t_{225}= 5.9, P<0.001); usando a transformada de Fisher, verificou-se que era também significativamente inferior a 0.5 (Z= -2.5, P ≈ 0.012).

Na segunda análise, em que usámos 145 pares (apenas um filho por progenitor, excluindo aleatoriamente os filhos em número superior a um), obtivemos uma estimativa de 0.41, que não era significativamente diferente de 0.5 (Z= -1.35, P>0.05)

A-2) Correlações entre irmãos

Quando considerámos como independentes as 247 fratrias completas (num total de 607 irmãos e com um número médio de doentes por fratria de 2.5), a estimativa do coeficiente de correlação intraclasse (que indica a proporção da variação total da idade de início entre fratrias) foi de 0.66 (Quadro 5.17), ou seja, só 34% da variação será devida aos indivíduos dentro da mesma fratria (com o mesmo progenitor). As estimativas dos coeficientes de correlação intraclasse eram semelhantes quando o progenitor transmissor era a mãe (0.55) ou o pai (0.50).

Quadro 5.17 Idade de início em fratrias

	Análise de Variância				
Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados (MQ)	F	Valor da prova
Entre fratrias (e)	33988.45	246	138.16	5.82	P ≈0
Dentro das fratrias (d)	8546.58	360	23.74		
Total	42535.03	606			

k (número de fratrias)=247; N (número de doentes)=607

Coeficiente de correlação intraclasse(t)

$$n_0 = \frac{1}{k-1}\left(N - \frac{\sum_i n_i^2}{N}\right) = 2.5$$

$$t = \frac{MQ_e - MQ_d}{MQ_e + (n_0 - 1)MQ_d} = 0.66$$

Numa segunda análise, considerámos em cada fratria apenas um par de irmãos (tendo excluído aleatoriamente os irmãos em número superior a dois) e obtivemos para o coefici-

ente de correlação intraclasse uma estimativa de 0.70, que era significativamente superior a 0.50 ($Z= 5.2$, $P<0.001$).

A-3) Comparação das correlações em pares de pais-filhos e irmão-irmão

O uso da transformada de Fisher para comparação das estimativas obtidas pelo 2º método (ou seja, em pares de irmãos e de pais-filhos), mostrou que o coeficiente de correlação intraclasse (em pares de irmãos), é significativamente superior ao coeficiente pais-filhos ($Z=-2.9$, $P<0.01$), ou seja, relativamente à idade de início, os irmãos são mais próximos entre si do que um doente e o seu progenitor afectado. Este resultado deverá ter implicações, não só em termos do aconselhamento genético como também na discussão de um modelo de variação da idade de início.

B) Doentes suecos

B-1) Correlações pais-filhos

Quando usámos os 44 pares de pais-filhos afectados, a estimativa calculada para o coeficiente de correlação de Pearson (0.22) não era significativamente diferente de zero ($t_{42}=1.47$, $P=0.15$)[43], o que poderia significar que não há nenhuma relação linear entre a idade de início no doente e no seu progenitor afectado.

No entanto, na segunda análise, em que usámos apenas um filho por progenitor (24 pares), a estimativa encontrada foi de 0.48, o que era significativamente diferente de zero ($t_{22}= 2.57$,$P=0.02$), mas não de 0.50 ($Z= -0.13$, $P>0.05$).

B-2) Correlações entre irmãos

Quanto ao coeficiente de correlação intraclasse calculado a partir de 39 fratrias (um total de 94 doentes), obtivemos uma estimativa de 0.66[43], o que parece bastante em concordância com os resultados dos doentes portugueses.

Numa segunda análise, considerando apenas dois irmãos por fratria, obtivemos um coeficiente de correlação de 0.73, significativamente superior a 0.50 ($Z= 2.3$, $P<0.05$)

B-3) Comparação das correlações em pares de pais-filhos e de irmãos

Apesar da estimativa do coeficiente de correlação intraclasse ser superior à do coeficiente de correlação pais-filhos, tal como nas famílias portuguesas, o uso da transformada de Fisher não pôs em evidência, para esta dimensão da amostra, uma diferença significativa entre os dois.

5.4. DISCUSSÃO

5.4.1. O paradigma inicial e a variabilidade hoje conhecida

Como tinha sido já aflorado no Capítulo 1, é hoje conhecida uma variabilidade da idade de início muito superior à inicialmente suposta, que neste capítulo se procurou documentar detalhadamente. Não tendo sido objectivo deste estudo tratar a variabilidade da apresentação clínica, procurei sim documentar o mais exaustivamente possível a variação na *penetrância dependente da idade*, usando a idade de início (e a falta de penetrância) como modelo da variabilidade fenotípica entre focos, entre zonas geográficas do mesmo país, entre famílias, entre gerações, entre fratrias e dentro da mesma fratria, entre sexos, entre transmissores paternos e maternos, entre transmissores afectados e não-afectados. Esses resultados serão em primeiro lugar comentados e sistematizados de uma forma mais parcelar e em seguida procurarei levantar algumas hipóteses sobre possíveis modelos para explicar a variabilidade da idade de início.

5.4.2. A distribuição da idade de início

Os estudos ao longo do tempo da idade de início nos doentes portugueses têm ilustrado um aumento da sua média, sobretudo nas mulheres (Quadro 5.3), o que indiscutivel-

mente se deve a uma melhor detecção de casos tardios, mas também ao facto de, devido ao aumento da sobrevida geral da população, portadores assintomáticos "tardios" do gene da PAF terem maior probabilidade de adoecerem. Apesar das diferenças de critérios utilizados para definir caso tardio, enquanto em 1988[32] se descreviam 48 doentes que tiveram início depois dos 51 anos, neste estudo referem-se 96 casos tardios (com início pelo menos aos 50 anos). Também as diferenças entre os sexos, quer no que diz respeito à idade de início, quer à diferente proporção de homens e mulheres atingidos, são uma constante de todos estes estudos (Quadro 5.3).

O facto da distribuição empírica da idade de início nos doentes portugueses (global, por sexos, ou truncada por anos de nascimento) não se ajustar a nenhuma distribuição conhecida leva-nos a colocar a hipótese de que se possa tratar de uma mistura de distribuições, ou seja, de que existam (pelo menos) duas sub-populações, a cada uma correspondendo uma distribuição. A confirmar-se, este resultado favoreceria a hipótese da implicação de modificadores genéticos, com diferentes frequências em cada uma das sub-populações. Contudo, até ao momento não foram encontrados sinais evidentes de bi ou tri-modalidade facilitando a separação dessas sub-distribuições, que poderão estar no entanto demasiado sobrepostas para se poderem distinguir.

Por outro lado, a distribuição empírica da idade de início, baseada nos doentes que já manifestaram a doença, é uma amostra enviesada, dado que sofre um efeito de coorte (excesso relativo de casos precoces e deficiência de tardios ainda assintomáticos). Contudo, não será suficiente truncar a amostra para a corrigir[49], pois mesmo este procedimento continua a considerar apenas o sub-grupo dos indivíduos que já manifestaram a doença. Para corrigir de facto esta distribuição será necessário usar métodos de dados truncados, que tenham em conta as idades e a situação na doença de todos os indivíduos em risco assintomático, vivos ou já mortos[49,50]. Não foi possível, no âmbito deste estudo, fazer tal correcção, pelos pressupostos que implica: uma informação completa e actualizada, dentro de cada família, sobre as idades de morte ou à data da última observação de todos os indivíduos em risco, de modo a que a distribuição dos *tempos de truncagem (censoring times)* seja aleatória.

5.4.3. A variabilidade da penetrância e as particularidades da idade de início

O estudo dos doentes tardios (definidos arbitrariamente como aqueles em que o início se faz a partir dos 50 anos de idade) e dos casos em que a doença não se manifestou em nenhum dos progenitores, mostrou ser de grande utilidade na compreensão da variabilidade da idade de início e da penetrância.

A distribuição geográfica dos casos tardios em Portugal (Figura 5.5 e Quadro 5.6) demonstrou a aglomeração da origem das suas famílias (como seria de esperar se os factores modificadores fossem familiares), mas sobretudo que esta se fazia em concelhos diferentes dos de maior prevalência da PAF. Estas diferenças geográficas associadas às diferenças de idade de início levantam várias hipóteses relativas à interacção de factores genéticos e ambienciais já discutidas em estudos anteriores[32,36,41]: presença de genes modificadores em algumas famílias, diferentes "fundos" genéticos ou diferenças ambienciais.

A agregação familiar dos casos tardios, independente da sua região de residência, reforça contudo a ideia de que se possa tratar de modificadores genéticos. Esta incidência familiar ficou demonstrada pelos diversos *pedigrees* apresentados, em que se agregam vários casos tardios e em que os seus progenitores são também eles tardiamente afectados ou portadores assintomáticos de idades avançadas. Em muitas outras famílias tardias, sobretudo as dos casos isolados, ambos os progenitores morreram em idades muito avançadas sem qualquer manifestação da doença, o mesmo acontecendo a tios ou tias desses doentes, o que nos fez levantar a hipótese de que factores genéticos associados à longevidade pudessem, nessas famílias, proteger da expressão da doença, resultando num início tardio ou, no seu limite, na não-manifestação. Os casos tardios, os casos isolados e os portadores assintomáticos de idade avançada, representam afinal um extremo da variabilidade da idade de início (que pode ser muito tardia ou não chegar nunca a manifestar-se).

Esta associação entre casos mais tardios e portadores assintomáticos foi desenvolvida por nós[31,32,41], começando a evidenciar-se em Portugal, a par das famílias clássicas, de penetrância completa, um outro tipo de famílias que pareciam mais protegidas dos efeitos do gene. A existência de um grupo de portadores que nunca manifestam sintomas (mesmo em idades avançadas) é de uma importância crucial para o entendimento dos mecanismos patogénicos desta doença: há portadores do gene da PAF que podem viver (pelo menos) até aos 93 anos sem nunca manifestarem sintomas, enquanto o mesmo gene tem um efeito devastador noutros indivíduos, traduzindo-se num início e morte no meio da vida adulta.

Na Suécia, a par de famílias de penetrância completa, com vários doentes na mesma geração, existe ainda um grande número de casos (35%) sem qualquer familiar próximo afectado. Estes casos não-familiares suecos têm uma distribuição de idade de início mais tardia (62.2) que a dos casos familiares (53.6 anos), ou seja, há também, muito mais que nos casos portugueses, famílias em que o início particularmente tardio se manifesta em casos isolados. De particular interesse é a discussão da ocorrência na Suécia de homozigotos isolados (em que nenhum dos progenitores manifestou sintomas) e mesmo de um homozigoto assintomático de 62 anos[46]; ou seja, não só a homozigotia não produz um fenótipo mais grave do que a heterozigotia, como a presença de uma dupla dose do gene pode não ser mesmo suficiente para o desencadear da doença. Este facto, por si só, exclui o efeito dos isoalelos no retardamento da idade de início, dado que não é a ausência de alelos normais (TTR^{Val30}) que provoca a doença. Outro dos aspectos interessantes associado às particularidades de manifestação da PAF na Suécia é a existência de um grupo de doentes com opacidades do vítreo, tendo sido demonstrada também a agregação familiar deste tipo de manifestação[38]. Aos doentes cujos primeiros sintomas são as opacidades do vítreo corresponde uma distribuição da idade de início mais tardia (68.4) do que a dos doentes que começaram com polineuropatia (53.1 anos)[38] e alguns daqueles nunca chegam inclusivamente a desenvolver sinais de polineuropatia[38]. Também nos doentes portugueses foi recentemente descrito um grupo particular: num estudo de 56 doentes portugueses com nefropatia[37], a idade média de início encontrada foi de 39.6 anos (e de 43.8 para os doentes que necessitaram de diálise), contra a média geral de 33.5 na amostra global dos doentes

portugueses. Ou seja, a manifestação mais tardia em certos doentes ou famílias induziria também uma apresentação clínica diferente.

Poder-se-ia talvez levar mais longe a possível relação entre o processo de envelhecimento, a longevidade e o aparecimento dos sintomas na PAF: é como se os indivíduos com tendência para uma sobrevida mais baixa começassem mais cedo a sofrer processos degenerativos, enquanto que os que tivessem propensão para uma sobrevida mais longa, eram poupados até mais tarde (podendo até nunca manifestar sintomas) ou poderiam até deixar de ter neuropatia, passando a sofrer mais da degenerescência de outros órgãos como os olhos ou os rins.

A hipótese da associação entre factores genéticos associados ao envelhecimento e a idade de início na PAF poderia ser testada, do ponto de vista quantitativo, pelo estudo das correlações entre a idade de início dos indivíduos afectados e a idade de morte dos não-afectados: se a idade de início fosse regulada por genes que "determinam" o processo normal de envelhecimento, seriam de esperar correlações positivas entre as idades de início dos indivíduos doentes e as idades de morte dos seus irmãos e progenitores não-afectados[51].

5.4.4. A influência do progenitor transmissor

De acordo com os nossos estudos anteriores nos doentes portugueses[48,52], embora haja mais homens do que mulheres doentes, mais doentes herdaram a PAF da mãe do que do pai, o que poderia sugerir uma *genetic fitness* diferente para cada sexo (um aspecto a ser tratado no Capítulo 7). Para os doentes que tiveram um progenitor afectado, o início mais precoce está associado à transmissão materna e o mais tardio à paterna, enquanto que no grupo dos doentes cujo transmissor não manifestou sintomas, a média de idade de início é cerca de 10 anos mais tardia. Mas o grupo mais tardio, ou seja, o mais protegido, corresponde aos doentes sem progenitor afectado e em que a doença não era conhecida nas gerações anteriores (transmissor desconhecido).

O estudo do efeito conjunto do sexo do progenitor afectado e do sexo do próprio doente permitiu pôr em evidência quatro sub-grupos, dos quais as médias extremas são os filhos de mãe afectada (28.5) e as filhas de pai afectado (34.1). Este resultado é compatível com um modelo multifactorial de modificadores genéticos, com um limiar diferente para cada sexo. As mulheres, mais protegidas, precisariam de mais factores adversos para adoecerem e iniciariam a doença mais tarde. Os seus filhos receberiam mais genes adversos e teriam assim um risco maior de adoecerem mais cedo e mais vezes, especialmente se forem homens (limiar mais baixo). Pelo contrário, as filhas de pai afectado estariam mais protegidas, uma vez que necessitariam de mais factores para adoecerem, mas o seu pai tinha poucos desses factores, devido ao seu limiar mais baixo para a doença.

Num artigo anterior tinha já sido demonstrado que a média de idade de início em doentes suecos era mais baixa quando a doença era herdada da mãe do que do pai[43]. Contudo, o estudo mais aprofundado da influência do sexo do progenitor feito nos doentes suecos veio pôr em evidência resultados ainda mais extremos do que os obtidos nos doentes portugueses. O início mais precoce parece indiscutivelmente associado à transmissão materna quando a mãe foi afectada (39.7), enquanto que no outro extremo estão os descendentes de mães não-afectadas (64.6 anos). Estes resultados poderão, a meu ver, vir a ser considerados no aconselhamento genético. Os resultados para os descendentes de pais transmissores, afectados ou não, situam-se entre aqueles dois valores. Além disso, o grupo constituido pelos seis doentes homozigotos tem uma média de idade de início (55 anos) que é próxima da dos doentes que herdaram a doença do pai, muito mais precoce do que os que herdaram a doença de uma mãe não afectada mas muito mais tardia do que os que tiveram uma mãe afectada. Ou seja, parece que as variações da idade de início poderão depender mais de um qualquer factor materno (protector), mais até do que da presença de homozigotia para o gene da TTR e qualquer discussão sobre os modelos genéticos deverá ter este resultado como centro de hipóteses.

5.4.5. A variação e as correlações familiares

Usámos diversos métodos para calcular estimativas dos coeficientes de correlação pais-filhos e entre irmãos. De acordo com os nossos resultados anteriores[32,43], as correlações entre irmãos eram superiores às correlações pais-filhos. Estas (à excepção da 1ª estimativa calculada nos doentes suecos e que, em virtude da dimensão da amostra, não era significativamente diferente de zero), eram todas indistinguíveis de 0.5. Estes resultados são consistentes com a hipótese de que a idade de início possa ser influenciada por modificadores genéticos[53]. Apesar do coeficiente de correlação entre irmãos ser ligeiramente mais elevado do que a correlação pais-filhos (o que se pode dever à contemporaneidade geracional dos irmãos que por isso partilham mais um ambiente comum), os valores elevados dos coeficientes de correlação pais-filhos sugerem uma componente genética na modulação da idade de início[53].

Um estudo futuro em que se tenha em conta, o sexo do doente e o do transmissor, por um lado, e o uso também da idade de morte e dos respectivos coeficientes de correlação, por outro, permitirá esclarecer melhor estas hipóteses.

5.4.6. Um modelo genético para a variação da idade de início

A agregação familiar dos casos tardios e os valores elevados das correlações intra-familiares sugerem factores genéticos associados à variabilidade da idade de início. O valor significativamente mais alto encontrado para as correlações entre irmãos do que entre pais e filhos poderá também estar relacionado com a maior proximidade de ambiente entre irmãos. Outra explicação possível, no entanto, seria a do papel dos isoalelos: os filhos afectados tenderiam a ser mais próximos entre si do que do progenitor (hipótese levantada por Penrose quanto à distrofia miotónica[54]). As grandes variações da idade de início entre irmãos de algumas fratrias completas e entre meios-irmãos poderiam sugerir uma modificação no locus da doença, ou seja, dos isoalelos. A descoberta de um heterozigoto composto TTR^{Met30}/TTR^{Met119} (sendo a TTR^{Met119} uma mutação não-patogénica e encontrada na

população geral), com um início tardio e uma evolução particularmente lenta[55] também ajuda a levantar essa hipótese. Nesse caso, a correlação da idade de início entre meios-irmãos (corrigida para o grau de parentesco e para a proximidade de ambientes) deveria ser mais baixa do que a calculada para irmãos-completos, hipótese impossível de testar por só haver três famílias com meios-irmãos.

Contudo, os resultados relativos aos homozigotos suecos apontam sobretudo para a existência de modificador(es) independente(s) do locus da doença, o que parece também ser sugerido pela proximidade dos coeficientes de correlação entre irmãos e pais-filhos.

Demonstrámos ainda que havia idades de manifestação clínica diferentes quando a doença é herdada da mãe ou do pai, apresentando, no caso dos doentes suecos, uma bi--modalidade particularmente evidente na distribuição da idade de início dos doentes com uma mãe transmissora: os filhos de mães portadoras mas não-afectadas (que estão portanto elas próprias protegidas) são mais tardios do que os de mães afectadas (com protecção insuficiente). A transmissão exclusivamente materna desta eventual protecção sugere uma de duas hipóteses: 1) ou esse factor protector está associado ao ADN mitocondrial (o que poderá ser testado em estudos futuros analisando a transmissão em linha materna avós/mães/filhas), ou 2) trata-se de um fenómeno de *genomic imprinting*[2,3], o que poderá ser verificado por estudos da metilação dos cromossomas maternos. Neste caso poderia haver um grupo de mães que transmitissem por exemplo, um gene modificador agravador inactivado, o que permitiria explicar os resultados encontrados.

Observámos ainda que, apesar da tendência para a agregação familiar dos casos tardios, há doentes tardios cujos descendentes têm início clássico (sem que os descendentes destes tenham por sua vez início tardio), dando origem a grandes antecipações da idade de início. Sequeiros e Saraiva[56] propuseram a hipótese de um segundo locus ligado e muito próximo do locus da TTR, um modificador em desequilíbrio de ligação (apenas com efeito em *cis* ou emparelhamento): o aparecimento de clássicos a descender de tardios seria o resultado do crossing-over entre o modificador e o locus da TTR, e da recombinação dos seus genes[56].

A hipótese de um modificador próximo do locus da TTR, permitiria explicar várias coisas. Por um lado, um modificador favorável (retardador da doença) muito frequente na Suécia mas raro em Portugal explicaria as grandes discrepâncias de idade de início entre os dois países; havendo uma grande endogamia no norte da Suécia até um passado recente (ver Capítulo 4), o que poderia favorecer a hipótese de um modificador recessivo, os portadores do gene da PAF poderiam estar aí mais protegidos, não tendo doença ou apresentando um início mais tardio; a perda dessa proteccção levaria então a um início mais precoce. O facto dos homozigotos suecos não serem diferentes dos heterozigotos em termos de idade de início seria também compatível com esta hipótese: a par da dupla dose do gene da PAF esses doentes receberiam também uma dupla dose da "protecção". Esta possibilidade não explica no entanto que até agora não tenha sido observado nenhum doente tardio a descender de um progenitor clássico.

Uma outra hipótese, a meu ver bastante mais consistente, seria que o segundo locus fosse do tipo das mutações dinâmicas com estado de premutação[57]. Nesse caso, o factor protector poderia ser a ausência de mutação e a sua perda corresponderia à passagem de pré-mutação a mutação (progenitores tardios dando origem a filhos de início clássico, sem que o inverso se verifique, dado que a mutação, uma vez estabelecida, seria irreversível). Por outro lado, esta explicação seria compatível com o modelo multifactorial com limiar atrás invocado para explicar a variabilidade da idade de início, a antecipação e a combinação do efeito do sexo do próprio doente com o sexo do progenitor transmissor, em que o número de repetições seria o factor quantitativo. Ou seja, a variação quantitatitva não seria provocada pelo efeito aditivo de múltiplos loci modificadores, mas pela variação quantitativa do número de repetições da mutação dinâmica do segundo locus. Esta hipótese permitiria também explicar o salto brusco de progenitores tardios a filhos clássicos, após o que as variações nas gerações seguintes se fariam de forma mais gradual, devido à expansão ou contracção do número de repetições, o que depende também do número de repetições já presentes no progenitor afectado.

As mutações dinâmicas até hoje conhecidas estão associadas apenas a loci principais de certas doenças neurológicas, não se conhecendo exemplos em que esse novo tipo de mutação possa ser responsável por mecanismos modificadores. Contudo, conhecem-se exemplos de repetições de trinucleotídeos ao longo de todo o genoma, não sendo impossível imaginar que *loci secundários possam também estar associados com mutações dinâmicas*.

Sobretudo, não é impossível imaginar que outros mecanismos e outras explicações ainda hoje completamente desconhecidos, possam um dia esclarecer alguns dos aspectos da variabilidade fenotípica da PAF.

5.5. BIBLIOGRAFIA

1 Reik W, Collick A, Norris ML, Barton SC, Surani MA. Genomic imprinting determines methylation of parental alleles in transgenic mice. *Nature* 1987;**328**:248-251.

2 Marx JL. A Parent's Sex may affect gene expression. *Science* 1988;**239**:352-353.

3 Hall JG. Genomic imprinting: Review and relevance to human diseases. *Am J Hum Genet* 1990;**46:**857-873.

4 Ridley RM, Frith CD, Farrer LA, Conneally PM. Patterns of inheritance of the symptoms of Huntington's disease suggestive of an effect of genomic imprinting. *J Med Genet* 1991;**28:**224-231.

5 Farrer LA, Cupples LA, Kiely DK, Conneally PM, Myers RH. Inverse relationship between Age at Onset of Huntington Disease and Paternal Age Suggests Involvement of Genetic Imprinting. *Am J Hum Genet* 1992;**50**:528-535.

6 Reik W, Maher ER, Morrison PJ, Harding AE, Simpson SA. Age-at-onset in Huntington's disease and methylation at D4S95. *J Med Genet* 1993;**30**:185-188.

7 Shaw DJ, Chaudhary S, Rundle SA, Crow S, Brook JD, Harper PS, Harley HG. A study of DNA methylation in myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1993;**30**:189-192.

8 Reis A, Dittrich B, Greger V, Buiting K, Lalande M, Gillesesn-Kaesbach G, Anvret M, Horsthemke B. Imprinting mutations suggested by abnormal DNA methylation patterns in familial Angelman and Prader-Willi syndromes. *Am J Hum Genet* 1994;**54**:741-747.

9 Sutherland GR, Richards RI. Dynamic mutations on the move. *J Med Genet* 1993;**30**:978-981.

10 Oberlé I, Rousseau P, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, Bour J, Bertheas MF, Mandel JL. Instability of a 550 base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* 1991;**252**:1097-1102.

11 Verkerk AJMH, Peiretti M, Sutcliffe JS, Fu Y-H, Kuhl DPA, Pizzuti A, Reiner A, Richards S, Victoria MF, Zhang F, Eussen BE, van Ommen GJB, Blonden LAJ, Riggins GJ, Chastain JL, Kunst CB, Galjaard H, Caskey CT, Nelson DL, Oostra BA, Warren ST. Identification of a gene (FMR-1)

containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991;**65**:905-914.

12 Fu Y, Kuhl DPA, Pizzuti A, Pieretti M, Verkerk AJMH, Holden JJA, Fenwick RG, Warren ST, Oostra BA, Nelson DL, Caskey CT. Variation of the CGG Repeat at the Fragile X-Site Results in Genetic Instability: Resolution of the Sherman Paradox. *Cell* 1991;**67**:1047-1058.

13 Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H, Hunter K, Stanton VP, Thirion J-P, Hudson T, Sohn R, Zemelman B, Snell RG, Rundle SA, Crow S, Davies J, Shelbourne P, Buxton J, Jones C, Juvonen V, Johnson K, Harper PS, Shaw DJ, Housman DE. Molecular Basis of Myotonic Dystrophy: Expansion of Trinucleotide (CTG) Repeat at the 3'End of a Transcript Encoding a Protein Kinase Family Member. *Cell* 1982;**68**:799-808.

14 Fu Y-H, Pizzuti A, Fenwick RG, King J, Rajnarayan S, Dunne PW, Dubel J, Nasser GA, Ashizawa T, De Jong P, Wieringa B, Korneluk R, Perryman MB, Epstein HF, Caskey CT. An Unstable Triplet in a Gene Related to Myotonic Muscular Dystrophy. *Science* 1992;**255**:1256-1258.

15 Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, Shutler G, Amemiya C, Jansen G, Neville C, Narang M, Barceló J, O'Hoy K, Leblond S, Earle-MacDonald J, De Jong PJ, Wieringa B, Korneluk RG. Myotonic Dystrophy Mutation: An Unstable CTG Repeat in 3'Untranslated region of the Gene. *Science* 1992;**255**:1253-1255.

16 La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, Fischbeck KH. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991;**352**:77-79.

17 The Huntington's Disease Collaborative Research Group. . A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosome. *Cell* 1993;**72**:971-983.

18 Koide R, Ikeuchi T, Onodera O, Tanaka H, Igarashi S, Endo K, Takahashi H, Kondo R, Ishikawa A, Hayashi T, Saito M, Tomoda A, Miike T, Naito H, Ikuta F, Tsuji S. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). *Nat Genet* 1994;**6**:9-13.

19 Orr HT, Chung M-Y, Banfi S, Kwiatkowski Jr TJ, Servadio A, Beaudet AL, McCall AE, Duvick LA, Ranum LPW, Zoghbi HY. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinicerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993;**4**:221-226.

20 Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, Aizawa M, Inoue M, Katayama S, Kawakami H, Nakamura S, Nishimura M, Akiguchi I, Kimura J, Narumyia S, Kakizuka A. CAG expansions in a novel gene from Machado-Joseph Disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;**8**:221-227.

21 Myers RH, MacDonald ME, Korosshetz WJ, Duyao MP, Ambrose CM, Taylor SAM, Barnes G, Srinidhi J, Lin CS, Whaley WL, Lazzarini AM, Schwarz M, Wolff G, Bird ED, Vonsattel JPG, Gusella JF. De novo expantion of a (CAG)n repeat in sporadic Huntington's disease. *Nat Genet* 1993;**5**:168-173.

22 Goldberg YP, Kremer B, Andrew SE, Theilman J, Graham RK, Squitieri F, Telenius H, Adam S, Sajoo A, Starr E, Heiberg A, Wolff G, Hayden MR. Molecular analysis of new mutations for Huntington's disease: intermediate alleles and sex of origin effects. *Nat Genet* 1993;**5**:174-179.

23 Shelbourne P, Winqvist R, Kunert E, Davies J, Leisti J, Thiele H, Bachmann H, Buxton J, Williamson B, Johnson K. Unstable DNA may be responsible for the incomplete penetrance of the myotonic dystrophy phenotype. *Hum Mol Gen* 1992;**1**:467-473.

24 Hunter A, Tsilfidis C, Mettler G, Jacob P, Mahadevan M, Surh L, Korneluk R. The correlation of age of onset with CTG trinucleotide repeat amplification in myotonic dystrophy. *J Med Genet* 1992;**29**:774-779.

25 La Spada AR, Roling DB, Harding AE, Warner CL, Spiegel R, Hausmanowa-Petrusewicz I, Yee W-C, Fischbeck KH. Meiotic stability and genotype-phenotype correlation of the trinucleotide repeat in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nat Genet* 1994;**2**:301-304.

26 Andrew SE, Goldberg YP, Kremer B, Telenius H, Theilmann J, Adam S, Starr E, Squitieri F, Lin B, Kalchman MA, Graham RK, Hayden MR. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet* 1993;**4**:398-403.

27 Maciel P, Gaspar C, DeStefano A, Silveira I, Coutinho P, Radvany J, Dawson DM, Sudarsky L, Guimarães J, Loureiro JL, Nezarati MM, Corwin LI, Lopes-Cendes I, Rooke K, Rosenberg RN, MacLeod PL, Farrer LA, Sequeiros J, Rouleau GA. Correlation between CAG repeat length and clinical features in Machado-Joseph Disease. *Am J Hum Genet* (em publicação).

28 Coutinho P, Silva AM, Lima LJ. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds).*Amyloid and amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

29 Andrade C. Hereditary amyloid neuropathy. In: Vinken PJ, Bruyn GW, (eds).*Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam and Oxford: North-Holland Publishing Company, 1975:119-143.

30 Bastos Lima A, Martins da Silva A. Clinical evaluation of late-onset cases in Type I (Andrade) Amyloid Neuropathy. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

31 Lobato L, Teixeira F, Sousa A, Sequeiros J. Genetic Study of Late-Onset in Hereditary Amyloid Neuropahty (HAN) - Type I (Portuguese, Andrade). In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:441-446.

32 Sousa A, Lobato L, Sequeiros J. Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (português, Andrade) - Variação familiar e modelos genéticos. *Boletim do Hospital (HGSA,Porto)* 1988;**3**:63-69.

33 Ribeiro I, Coutinho P. Late-onset forms of familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese type): a reappraisal. In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:435-440.

34 Fisher RA. *Statistical Methods for Research Workers*. Edinburgh and London: Oliver and Boyd, 1958.

35 Sokal R, Rohlf F. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco: W.H.Freeman and Company, 1969.

36 Sequeiros J, Sousa A, Coelho T. Sex-differences and age-dependent penetrance in FAP-type I. In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:687-690.

37 Lobato L, Sousa A, Jorge R, Costa PP, Azevedo J, Caspurro S, Xavier E. Nephropathy in the familial amyloid polyneuropathy (FAP) TTR Met 30-Epidemiological and clinical study. *Kid Int* 1994;**45**:283.(Abstract).

38 Sandgren O, Drugge U, Holmgren G, Sousa A. Vitreous involvement in familial amyloidotic neuropathy: a genealogical and genetic study. *Clin Genet* 1991;**40**:452-460.

39 Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy. *Brain* 1952;**75**:408-427.

40 Becker PE, Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F. Paramyloidose der peripheren Nerven in Portugal. *Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre* 1964;**37**:329-364.

41 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**:293-299.

42 Andersson R. Familial Amyloidosis with Polyneuropathy: A Clinical Study Based on Patients Living in Northern Sweden. *Acta Med Scand* 1976;**Suppl. 590**:1-64.

43 Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, Sousa A. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: A pedigree analysis. *J Med Genet* 1993;**30**:388-392.

44 Wexler NS, Young AB, Tanzi RE, Travers H, Rubinstein SS, Penney JB, Snodgrass SR, Shoulson I, Gomez F, Arroyo MAR, Penchaszadeh GK, Faryniarz A, Hobbs W, Anderson MA, Bonilla E, Conneally PM, Gusella JF. Homozygotes for Huntington's disease. *Nature* 1987;**326**:194-197.

45 Myers RH, Leavitt J, Farrer LA, Jagadeesh J, McFallane H, Mastromauro CA, Mark RJ, Gusella JF. Homozygote for Huntington disease. *Am J Hum Genet* 1989;**45**:615-618.

46 Holmgren G, Haetnner E, Nordenson I, Sandgren O, Steen L, Lundgren E. Homozygosity for the transthyretin-met30-gene in two Swedish sibs with familial amyloidotic polyneuropahty. *Clin Genet* 1988;**34**:333-338.

47 Andersson R, Kassman T. Vitreous opacities in primary familial amyloidosis. *Acta Opthal* 1968;**46**:441-447.

48 Sousa A, Coelho T, Sequeiros J. Parental transmission and age-of-onset in familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese type). In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:691-693.

49 Adams P, Falek A, Arnold J. Huntington disease in Georgia: Age at onset. *Am J Hum Genet* 1988;**43**:695-704.

50 Cupples LA, Terrin NC, Myers RH, D'Agostino RB. Using Survival Methods to Estimate Age-at-Onset Distributions for Genetic Diseases With an Application To Huntington Disease. *Genet Epidemiol* 1989;**6**:361-371.

51 Farrer LA, Conneally PM, Yu P. The natural history of Huntington disease: possible role of 'aging genes'. *Am J Med Genet* 1984;**18**:115-123.

52 Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) - type I in Póvoa do Varzim/Vila do Conde (North of Portugal). *Am J Med Genet* (Neurop Genetics) (em publicação).

53 Haldane JBS. The relative importance of principal and modifying genes in determining some human diseases. *J Genetics* 1941;**41**:149-157.

54 Penrose LS. The problem of anticipation in pedigrees of Dystrophia Myotonica. *Ann Eugen* 1948;**14**:125-132.

55 Coelho T, Carvalho M, Saraiva MJM, Alves I, Almeida MR, Costa PP. A strikingly benign evolution of FAP in an individual found to be a compound heterozygote for two TTR mutations: TTR Met30 and TTR Met 119. *The Journ of Rheum* 1993;**20**:179.(Abstract).

56 Sequeiros J, Saraiva MJM. Onset in the Seventh Decade and Lack of Symptoms in Heterozygotes for the TTR Met30 Mutation in Hereditary Amyloid Neuropathy-TypeI (Portuguese, Andrade). *Am J Med Genet* 1987;**27**:345-357.

57 Caskey CT, Pizzuti A, Fu Y-H, Fenwick RG, Nelson DL. Triplet Repeat Mutations in Human Disease. *Science* 1992;**256**:784-789.

6. A VARIABILIDADE ENTRE GERAÇÕES: A ANTECIPAÇÃO DA IDADE DE INÍCIO

6.1. INTRODUÇÃO

O termo *antecipação* tem sido usado para designar o aparecimento de uma doença genética em idades progressivamente mais precoces em gerações sucessivas, muitas vezes acompanhado também por manifestações clínicas mais graves. Como refere Peter Harper[1], o conceito de antecipação foi inicialmente desenvolvido em relação a doenças não-Mendelianas, como é habitualmente o caso das doenças mentais, e foi fortemente influenciado pelas ideias de degenerescência (social e biológica) de uma dada característica quando transmitida de pais para filhos[2]. Contudo, foi nas doenças autossómicas dominantes de expressão variável (principalmente na distrofia miotónica), que mais se estudou e discutiu este problema, que se saldou por um diferendo histórico entre os clínicos, muitos dos quais defendiam a possibilidade da existência real da antecipação, e a maioria dos geneticistas que até há pouco tempo apenas viam a antecipação como um resultado de vários enviesamentos.

Fleischer, um oftalmologista suíço, foi o primeiro a registar a antecipação na distrofia miotónica, ao descrever famílias em que a primeira geração de afectados incluía apenas indivíduos com cataratas, aparecendo uma ou duas gerações mais tarde doentes com manifestações típicas de distrofia miotónica e, mais tarde ainda, uma taxa elevada de atraso mental, mortalidade infantil, ou de casamentos sem filhos[3]. Além disso, os seus estudos genealógicos conduziram-no a ligar entre si algumas famílias com distrofia miotónica através de indivíduos que, ou tinham apenas cataratas, ou não tinham quaisquer manifestações (concluindo que o gene poderia pois não ter produzido qualquer manifestação em antepassados comuns[3]).

A primeira análise de genética quantitativa da distrofia miotónica foi feita em 1947 por Julia Bell[4], do laboratório Galton de Londres, onde trabalhava também Lionel Penrose, colaborador próximo de J.B.S. Haldane e R.A. Fisher. Como os seus predecessores, também Julia Bell notou uma grande variabilidade de apresentação clínica e de idade de início entre gerações, que designou por antecipação (*antedating*). Apesar de ter demonstrado que as observações da idade de início em duas gerações sucessivas não constituíam amostras aleatórias da mesma população (isto é pertenciam a duas distribuições diferentes), Bell não considerou a antecipação como provada, dada a possibilidade de selecção dos dados que analisou[4]. Contudo, foi o estudo de Penrose[5], em parte baseado nos dados e observações de Julia Bell, que marcou o debate nas décadas seguintes.

Para Penrose, a antecipação observada era sobretudo produzida pelo tipo de selecção de famílias para o estudo e não tinha qualquer significado biológico (pp. 125)[5]. Os argumentos de Penrose tornaram-se clássicos, apontando três fontes principais de enviesamento: 1) detecção preferencial de progenitores com início tardio (dado que em muitas doenças, um início muito precoce pode ter como consequência uma diminuição da fertilidade, tornando mais improvável a inclusão destes casos no grupo de progenitores); 2) selecção preferencial de filhos com início precoce (devido à sua maior gravidade); 3) detecção preferencial de progenitores e filhos com início mais ou menos simultâneo (ou seja, em que as idades de início nos progenitores diferem da dos filhos de cerca de uma

geração), devido ao tempo limitado de observação de famílias para a sua inclusão num estudo.

Penrose não negou, evidentemente, a observação da antecipação, mas afirmou que seria de esperar que os *pares complementares*, ou seja, com início precoce nos pais e tardio nos filhos pudessem aparecer tantas vezes como os que exibiam antecipação, o que só não acontecia devido ao efeito das várias formas de enviesamento apontadas. Penrose estabeleceu um índice de antecipação que definiu como a média da diferença de idade de início pais-filhos dividida pelo desvio padrão da idade de início global, procurando padronizar a diferença entre as gerações com uma medida de dispersão da variabilidade[5]. Se bem que em relação a outras doenças os valores encontrados para este índice sejam de ordem a atenuar o efeito da antecipação observada, para a distrofia miotónica ele era de 0.9, muito superior a qualquer outra doença analisada (pp. 127)[5]

Por isso Penrose não reduziu completamente a explicação da antecipação da distrofia miotónica ao resultado de enviesamentos, dado que seria também reflexo do efeito da grande variabilidade da idade de manifestação e do papel do(s) alelo(s) normal(is) na regulação da expressão da doença: se a idade de início está dependente do alelo normal, como este só é transmitido pelo progenitor não-afectado ao filho afectado que já herdou o gene mutante do outro progenitor, a correlação da idade de início entre pais e filhos deverá ser extremamente baixa. Como comenta P. Harper[1], Penrose não considerou porém a hipótese inversa, ou seja, de que essa correlação baixa pudesse ser o resultado e não o efeito da antecipação.

Para Penrose, o efeito de antecipação observado era aparente e não real e, portanto, não requeria nenhuma explicação biológica nova, a não ser a procura de factores que pudessem modificar o efeito de um gene dominante, compatíveis com uma correlação entre irmãos próxima de 0.5 e uma correlação pais-filhos muito mais baixa (pp. 129)[5] É curioso como a autoridade de Penrose no seio dos geneticistas fez com que toda a discussão desta questão tivesse ficado enquistada durante décadas, ao ponto de ter dificultado os estudos sobre a variabilidade entre gerações em muitas doenças.

Para Peter Harper[1], parece surpreendente que Penrose tenha tido tanta relutância em aceitar a evidência dos argumentos de Julia Bell e a explicação deverá ser situada no seu contexto histórico concreto. Penrose era um anti-eugenicista convicto e um defensor dos direitos dos deficientes mentais, sendo portanto um firme opositor das teorias de Mott[2], cujas declarações eram verdadeiras diatribes eugénicas, xenófobas e fascizantes: "at the present time in Great Britain restriction of families is occurring in one-half or two-thirds of the people, including all the best, while children are being freely born to the feeble-minded, to the pauper, to the alien Jew, to the Irish Roman Catolic, to the thriftless casual labourers, to the criminals and others" (Mott, pp 1251, citado por Peter Harper[1]).

Além disso, nos anos 40-50 o genoma humano era considerado estável, sendo impossível imaginar que pudesse haver modificações numa mutação quando transmitida de uma geração para a seguinte. Como comentam G.R. Sutherland e R.I. Richards a propósito da recente descoberta das mutações dinâmicas, "there was no known mechanism by which this virtually Lamarckian entity could operate" [6].

Os grandes impulsos para o estudo da antecipação, vieram de estudos clínicos ou dos estudos de genética quantitativa, alguns anos antes da descoberta dos novos mecanismos biológicos (mutações dinâmicas). A explicação tradicional (enviesamentos produzindo uma ilusão estatística) foi perdendo peso quando, em algumas dessas doenças, se começou a verificar que a antecipação da idade de início tinha uma expressão diferente quando o gene era herdado do pai ou da mãe, o que se tornava obviamente difícil de explicar apenas como resultado da selecção das famílias[7-9].

A descoberta da forma congénita de distrofia miotónica[10,11] (associada então exclusivamente à transmissão materna), o estabelecimento inequívoco das formas juvenis da doença de Huntington (transmitidas predominantemente por via paterna)[7,12,13], bem como o *paradoxo de Sherman* no síndrome do X frágil[14], questionaram seriamente algumas das noções clássicas de hereditariedade mendeliana, tanto no sentido de poder haver diferenças de manifestação de um gene conforme ele é herdado do pai ou da mãe (*genomic imprinting*), como da variabilidade de expressão entre gerações.

Já no final da década passada, mas antes da descoberta das mutações dinâmicas, surgiram estudos, na minha opinião muito importantes, que trouxeram algumas novas abordagens aos estudos da antecipação: o de Ridley et al., ao fazer uma análise quantitativa da antecipação na doença de Huntington, estudando em particular o problema da regressão para a média[7] e os de Höweler[8,15] que demonstraram, pela análise das famílias e pela procura de pares complementares, que a antecipação na distrofia miotónica era real e não o produto de enviesamentos.

Apesar da genética molecular ter recentemente posto em evidência novos mecanismos capazes de explicar biologicamente o fenómeno da antecipação em algumas doenças (ver Capítulo 5), em minha opinião qualquer estudo destinado a reavaliar a antecipação noutras doenças não pode deixar de ter em conta os argumentos de Penrose e procurar corrigir para as fontes de enviesamento que ele apontou. Não deitemos fora a criança com a água do banho.

6.1.1. Os estudos anteriores sobre a antecipação na PAF

Como já referimos, apesar das descrições de Ribeiro do Rosário[16] e Becker[17] incluirem várias árvores familiares em que as idades de início eram mais precoces numa geração do que na precedente, este efeito de antecipação foi reduzido por Becker a enviesamentos, usando os argumentos clássicos de Penrose[17], prevalecentes na época. Só muitos anos mais tarde é que se volta a falar de famílias em que o início se faz de forma particularmente tardia numa geração e clássica na seguinte, sem que o termo antecipação seja porém mencionado[18,19]. Também não se encontra estudado nem documentado o problema da variabilidade clínica entre gerações. A descoberta do marcador bioquímico[20,21] e do gene da TTR (uma mutação pontual *clássica*)[22] conduziu ao estudo de algumas das famílias em que os progenitores manifestavam início tardio e os filhos início clássico, tendo-se concluído que a mutação era a mesma em ambos os casos[23]. Também se confirmou que havia portadores da mutação que podiam não exibir sintomas clínicos, mesmo quando viviam até idades avançadas[24,25].

6.1.2. As nossas anteriores tentativas de estudar a antecipação na PAF

Na primeira revisão da idade de início em pares de pais-filhos (110 pares), observámos que vários progenitores tardios tinham descendentes com início clássico, embora o contrário não ocorresse, ou seja, nenhum caso tardio tinha (ainda?) descendido de um progenitor clássico[25,26].

Além disso, usámos de novo o conceito de antecipação da idade de início entre gerações[25], tendo concluído que a média da idade de início nos filhos (28.5 anos) era significativamente mais baixa do que a dos progenitores (36.2), quer estes fossem clássicos ou tardios; encontrámos ainda uma antecipação média de 5.6 anos para os filhos de clássicos e 25.9 anos para os filhos de tardios[27].

Mais tarde num estudo específico sobre a questão da antecipação, analisámos 147 pares de pais-filhos de famílias portuguesas registadas no CEP[28], tendo concluído que: a) dos 147 pares analisados, apenas em 40 a idade de início nos filhos era superior à do progenitor afectado; b) não foi encontrado nenhum par em que o progenitor tivesse início clássico e o descendente tivesse início tardio; c) a análise de variância a dois factores (sexo do doente e sexo do progenitor afectado) mostrou que ambos os factores eram significativos, sem interacção entre eles: as médias extremas de antecipação eram 10.9 para os filhos de mãe afectada e -1.3 para as filhas de pai afectados (que começam portanto a doença mais tarde do que o seu progenitor). Um nosso estudo posterior[29], confirmou estas conclusões.

6.1.3. Objectivos deste estudo

Neste estudo, além de usar uma amostra bastante superior aos anteriores, gostaria de aprofundar alguns dos aspectos já esboçados, que permitam esclarecer algumas hipóteses sobre a variabilidade entre gerações. Um outro objectivo é procurar detectar algumas das

circunstâncias associadas às grandes antecipações da idade de início, o que pode ser importante do ponto de vista do aconselhamento genético e do prognóstico.

Será dada particular atenção aos problemas resultantes do tipo de selecção das famílias, para os quais Penrose chamou a atenção quase há meio século, tendo-se procurado usar metodologias que corrijam para o efeito dos vários tipos de enviesamentos. Em particular, 1) investiguei retrospectivamente a existência de *pares complementares*, ou seja, procurei conhecer a idade de início ou a idade de morte (se não afectados) dos progenitores dos casos mais tardios, de modo a esclarecer se algum desses doentes tardios observados poderia ter tido um progenitor com início precoce; 2) depois de uma análise global da antecipação, repeti a análise eliminando os pares com início mais ou menos simultâneo (cronologicamente) entre pais e filhos, o que constitui a maior fonte de enviesamentos; 3) estudei a relação linear da antecipação com a idade de início do progenitor, de modo a testar a hipótese de se tratar simplesmente de regressão para a média. Mais tarde (Capítulo 7), foi também estudada a relação entre a fertilidade dos doentes e a idade de início .

6.2. SUJEITOS E MÉTODOS

6.2.1. Análise de pedigrees

Embora uma análise quantitativa da antecipação seja crucial, como veremos, ela não esgota toda a realidade. Por isso me pareceu igualmente importante a inspecção das árvores familiares, e o estudo minucioso da transmissão da idade de início de uma geração para a seguinte, de que se dá conta nos vários pedigrees que se apresentam. A variabilidade entre as gerações foi por vezes ilustrada pela idade de morte ou idade à última observação dos transmissores não afectados.

6.2.2. Análise quantitativa

a) A selecção dos pares de pais-filhos nos doentes portugueses

1) *Os pares que incluíam um progenitor observado*

Numa primeira análise, foram usados todos os pares de pais-filhos em que *ambos eram doentes e tinham sido observados no CEP* em que a idade de início era conhecida para ambos (227 pares, 110 famílias distintas). Nas nove famílias que têm três gerações de observados, a do meio é contabilizada duas vezes, numa como filhos e na outra como progenitores.

Usando este critério, foram excluídos da análise quantitativa 23 doentes que descendem de portadores assintomáticos comprovados (6 pais e 12 mães), nalguns casos de idades bem avançadas, bem como 60 doentes cujo transmissor (identificado por laços familiares), tinha morrido (ou estava ainda vivo) sem qualquer manifestação de sintomas.

Numa segunda análise, de modo a corrigir para o enviesamento resultante da inclusão de pares de pais-filhos com início simultâneo, excluí 18 pares em que a diferença entre o ano de início no progenitor e no filho variava entre -5 e +5.

2) *Os pares em que o progenitor afectado não tinha sido observado*

Nesta amostra havia ainda 543 doentes de cujo progenitor, descrito como tendo morrido de PAF, se desconhecia a idade de início, mas cuja idade de morte estava registada. Uma vez que, num estudo anterior, tínhamos estudado a idade de morte e duração total de 450 doentes[30], para os quais a idade de início era também conhecida, esses dados foram aqui utilizados de modo a construir um modelo linear de estimativa da idade de início a partir da idade de morte (IDMORTE). O modelo de regressão linear

$$II = -7.7 + 0.93 * IDMORTE$$

mostrava um bom ajuste aos dados, com R^2= 0.84 e com os resíduos seguindo uma distribuição normal.

Este modelo foi usado para estimar a idade de início dos 543 progenitores não-observados, permitindo aumentar a amostra em estudo de 227 para 770 pares (pertencentes a 305 famílias diferentes).

b) A selecção dos pares de pais-filhos nos doentes suecos

A amostra de pares de pais-filhos em que ambos foram observados é bastante reduzida, sendo composta apenas por 44 pares. Contudo, essa dimensão da amostra não se prende com falta de informação familiar *mas sim com o início habitualmente muito mais tardio na Suécia e o facto da maioria dos progenitores dos doentes suecos não terem manifestado sintomas de PAF (*apesar de muitos deles terem morrido em idades avançadas).

6.2.3. Definições

a) Início tardio, intermédio, clássico e precoce

Como já foi dito no Capítulo 5, nos doentes portugueses defini início *tardio* como aquele que se faz a partir dos 50 anos, *intermédio* o que se faz entre os 40 e os 50 anos e *clássico* aquele em que o início se faz antes dos 40 anos; início *precoce* será aqui usado para o que se faz antes dos 30 anos.

Nos doentes suecos, defini como *tardio* o início que se faz a partir dos 70 anos.

b) Antecipação e grupos de antecipação

A *antecipação* foi definida como a idade de início do progenitor menos a do doente. Num sentido lato, defini *antecipação positiva* quando a idade de início era mais precoce no filho do que no progenitor afectado e *negativa* quando era mais tardia no filho do que no

progenitor. Num sentido mais estrito, e dado que a idade de início é por vezes difícil de determinar, considerei *antecipação positiva* quando o filho começava a doença pelo menos três anos mais cedo do que o progenitor e *negativa* quando começava pelo menos três anos mais tarde. A *grande antecipação* foi definida para os casos em que a idade de início era pelo menos 10 anos mais cedo no doente do que no progenitor afectado.

6.2.4. Métodos estatísticos

O teste *t* de Student para amostras emparelhadas foi usado na comparação da diferença de idade de início entre progenitores e filhos, ou seja, para testar a hipótese de que não houvesse antecipação significativa. O teste do *Qui-quadrado* de homogeneidade foi usado para comparar a distribuição da idade de início na amostra dos progenitores e na dos filhos.

Foi usado um modelo de regressão linear simples (para cada grupo de doentes mães-filhos, mães-filhas, pais-filhos e pais-filhas), em que a variável dependente era a antecipação e a variável independente era a idade de início do progenitor. O objectivo era testar se a antecipação era real ou se o efeito observado era apenas o de regressão em torno da média da idade de início do progenitor, caso em que o ponto de antecipação zero deveria corresponder à média da idade de início no grupo parental.

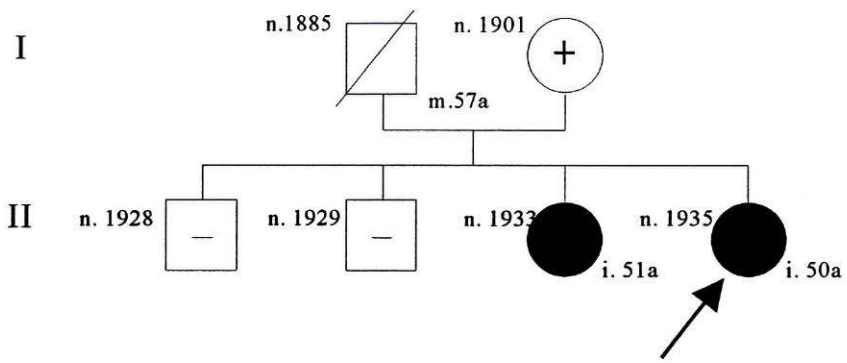
O efeito do sexo do doente e do sexo do progenitor na antecipação foi testado com um modelo de análise de variância a dois factores com interacção.

6.3. RESULTADOS DA ANTECIPAÇÃO NOS DOENTES PORTUGUESES

6.3.1. Análise de pedigrees

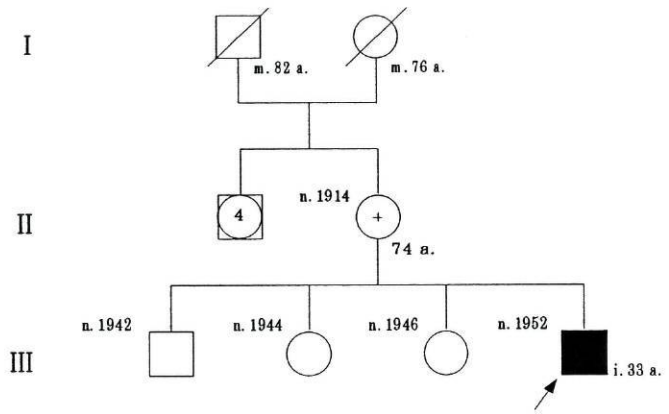
As famílias que a seguir se descrevem ilustram alguns dos padrões de transmissão da idade de início de uma geração para a outra e casos de não-penetrância nos progenitores.

Família 6.1



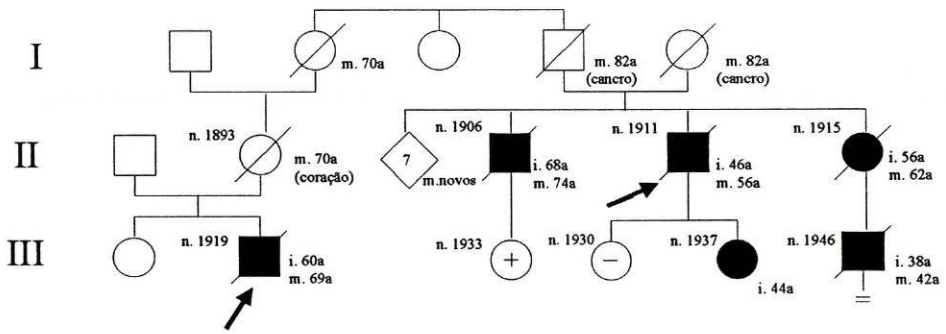
Esta família ilustra claramente a variabilidade de expressão da PAF entre gerações: a mãe das duas doentes, ainda viva e presentemente com 93 anos, é portadora assintomática do gene da PAF. Dado o critério que usámos (filhos e progenitores ambos doentes), esta família não foi incluída na análise quantitativa, apesar de representar uma antecipação superior a 42 anos, muito para além das amplitudes conhecidas. Foram encontrados 23 doentes (18 famílias nucleares) em circunstâncias idênticas, ou seja, em que o progenitor transmissor era portador assintomático à data do diagnóstico do filho. A exclusão destas famílias enviesa a amostra contra a existência de antecipação.

Família 6.2



O probando (e único afectado) desta família teve um início clássico, sem que a doença se tivesse manifestado nos progenitores. Contudo, provou-se que a sua mãe era, aos 74 anos de idade, portadora não-manifestante do gene. Os pais desta, por sua vez, tinham ambos morrido em idades relativamente avançadas sem quaisquer sintomas de doença. Ou a mãe do probando representa um novo mutante, ou o gene terá podido, em várias famílias, atravessar várias gerações sem se manifestar.

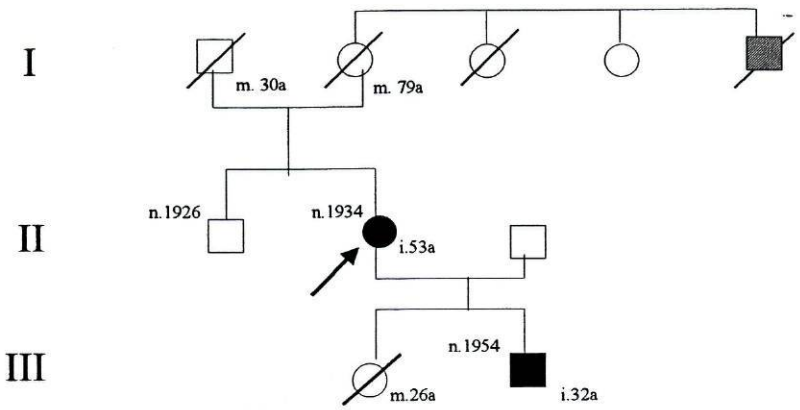
Família 6.3



Nesta história familiar há dois probandos e só as ligações familiares encontradas permitiram estabelecer que o progenitor transmissor de III.2 era a mãe e o da fratria II.10,11 e 12 era o pai, dado que na primeira geração não havia quaisquer sinais de doença, apesar das mortes terem ocorrido em idades já avançadas. A primeira geração de afectados do segundo ramo caracteriza-se por um início tardio ou intermédio, enquanto na segunda se nota uma antecipação de 18 anos de II.12 para III.6. Quanto a III.3, era ainda

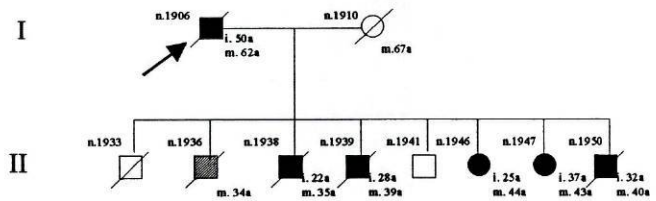
(portadora) assintomática aos 60 anos de idade, o que quer dizer que, se vier a manifestar sintomas da doença, o fará numa idade já relativamente tardia.

Família 6.4

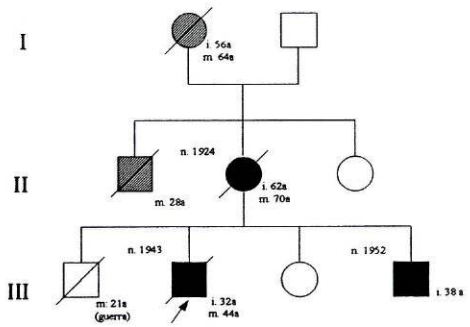


Embora o probando desta família seja II.2, existe uma antecipação de 21 anos na idade de início de III.2, ou seja, a observação da família permitiu estabelecer que a doença se manifestou primeiro em III.2: o início nesta família apenas diferiu de um ano, ou seja, foi quase simultâneo nos dois doentes.

Família 6.5

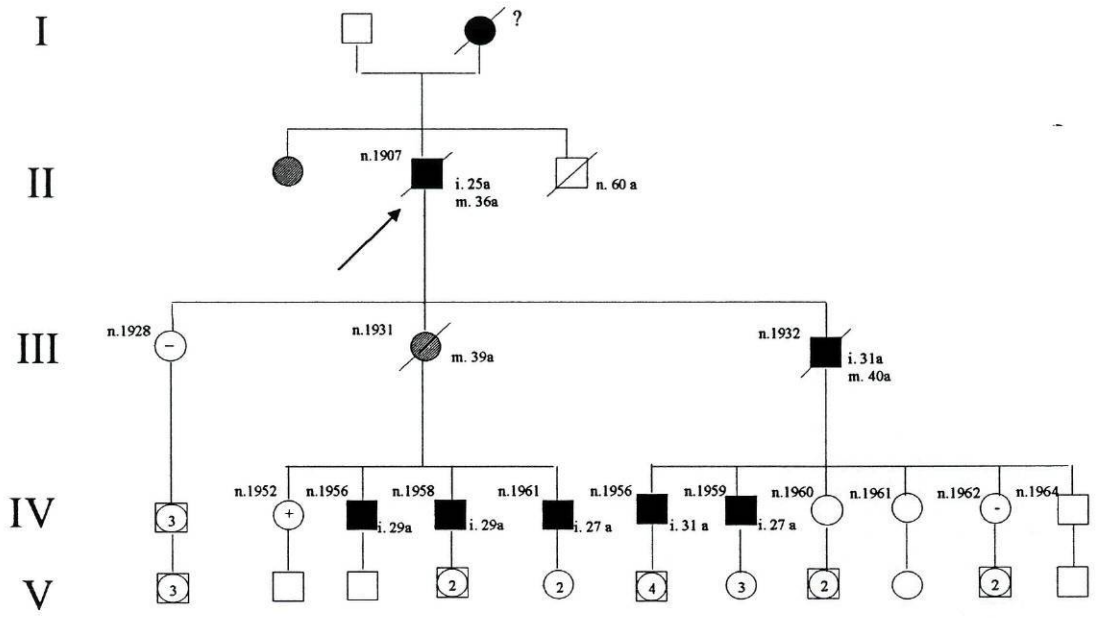


Família 6.6



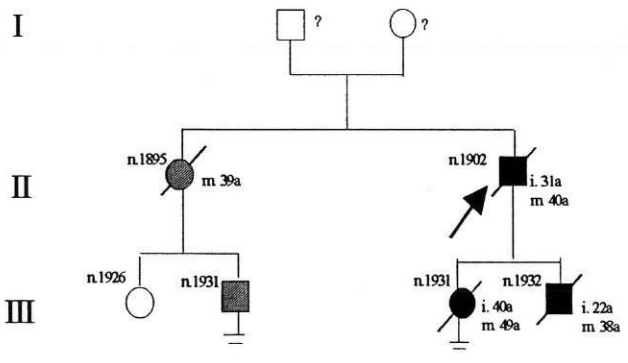
Contudo, as grandes antecipações não são apenas o resultado aparente de um início quase simultâneo no progenitor e no filho, como demonstram as famílias 6.5 e 6.6: no primeiro, o probando foi o pai, tendo os filhos começado mais tarde (cronologicamente), com idades de início mais baixas; no segundo, o probando foi um dos filhos, tendo o progenitor começado a doença 11 anos mais tarde do que o filho.

Família 6.7

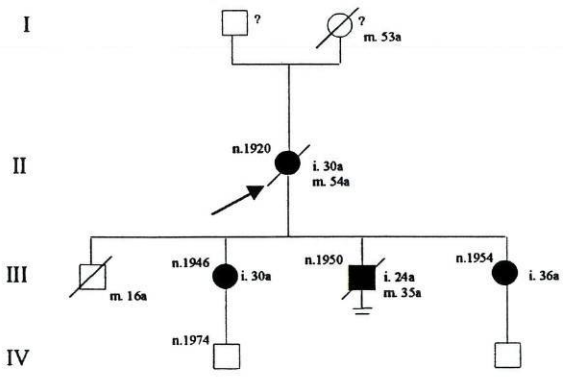


Num dos ramos desta família conhecem-se três gerações de observados, havendo alguma homogeneidade de idade de início de uma geração para a outra. No ramo que se manifesta de II.2 para III.2, apesar de só a idade de morte desta ser conhecida, as idades de início dos netos são sobreponíveis à do avô.

Família 6.8

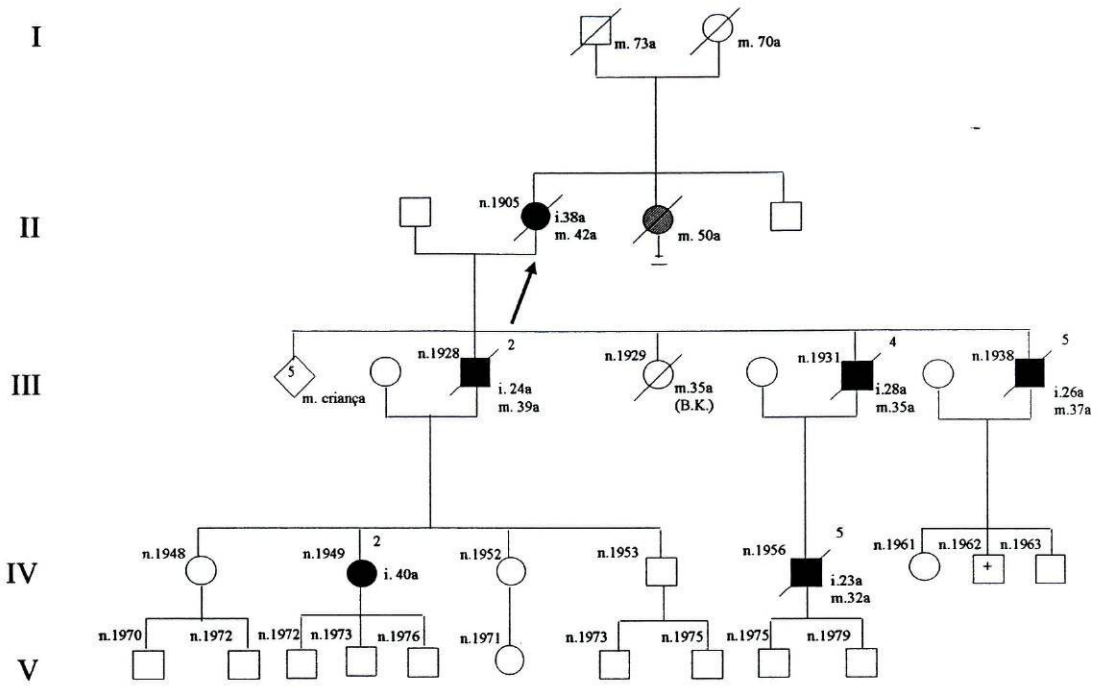


Família 6.9



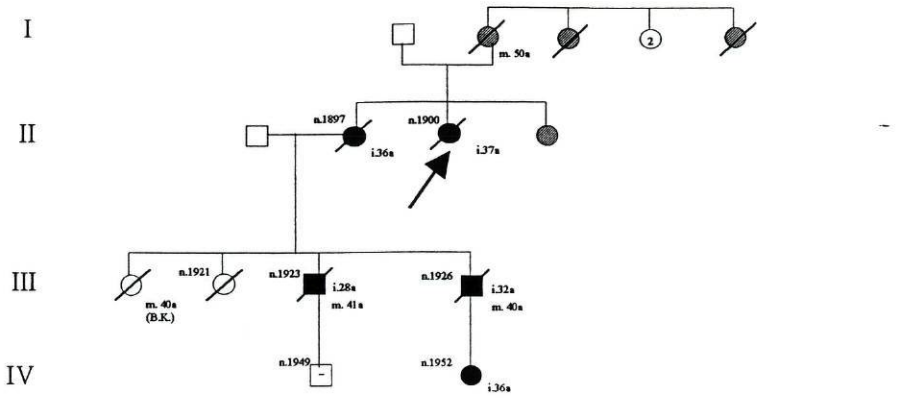
Estas duas famílias têm em comum o facto de, na mesma fratria, se verificar antecipação positiva e negativa sendo, nos dois casos, as filhas que exibem uma idade de início mais tardia que a dos respectivos progenitores afectados e os filhos que manifestam mais precocemente que os seus progenitores. Como veremos, este padrão é confirmado pela análise quantitativa.

Família 6.10



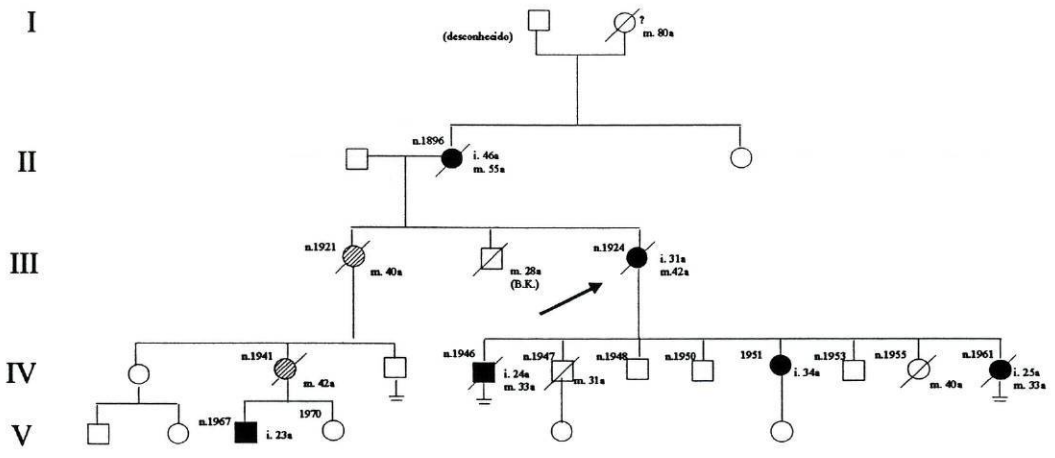
Esta família, em que já foram observados no CEP três gerações de doentes, tem em comum com a família 76 (atrás) o facto de não se conhecerem doentes na 1ª geração. Na 2ª geração as mulheres afectadas tiveram um início intermédio. Contudo, a forma como a doença se transmitiu às gerações seguintes foi diferente: os três irmãos da geração III tiveram um início precoce associado a antecipações de 10, 12 e 14 anos. Mas enquanto que a doente IV.2 teve uma antecipação negativa de 16 anos (repondo assim a idade de início da geração II), o seu primo IV.5 antecipou mais 5 anos em relação ao seu progenitor. Na mesma família pode portanto haver diferentes padrões de transmissão em ramos próximos. De notar que apesar do seu início precoce (24, 26 e 23 anos) os casos III.2, III.5 e IV.5 tiveram ainda a possibilidade de se reproduzir, começando a ter filhos bastante novos (aos 20, 23 e 19 anos, respectivamente).

Família 6.11



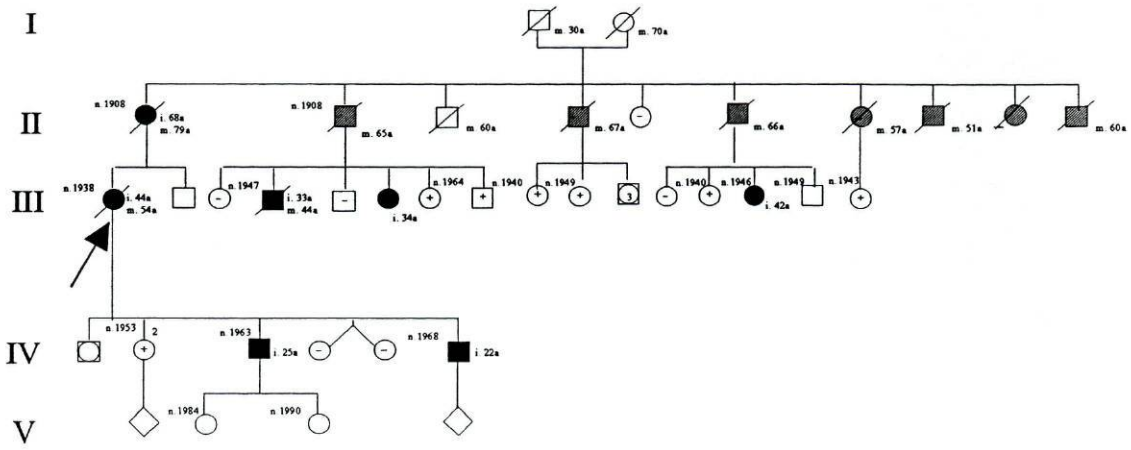
Também nesta família há três gerações de observados. A antecipação sofrida de II.2 para III.4 é compensada pela antecipação negativa de IV.2 (filha de pai afectado).

Família 6.12



Nesta família observa-se um efeito cumulativo de antecipação da geração II à geração IV, à excepção de IV.8., que manifesta antecipação negativa.

Família 6.13



Também aqui se manifesta um efeito cumulativo de antecipação, embora IV.2 possa vir a ser tardia ou pelo menos intermédia, o mesmo acontecendo a várias das portadoras assintomáticas da 3ª geração.

6.3.2. Análise quantitativa

a) Descrição geral da amostra de progenitores e da amostra dos descendentes

Os 227 pares de pais-filhos pertenciam a 110 famílias distintas e os filhos distribuíam-se por 145 fratrias de tamanho variável. Na 1ª geração os doentes tinham nascido entre 1898 e 1942 e na segunda entre 1923 e 1969. A idade de início dos 145 progenitores (considerados uma só vez) variava entre 22 e 70 anos (média ± d.p.: 36.8 ± 10.7, sendo de 34.7 ± 9.5 para os pais e 39.6 ± 11.7 para as mães). Nos 227 descendentes, a idade de início variava entre os 20 e os 48 anos de idade (30.2 ± 5.7), sendo significativamente mais baixa do que na geração anterior ($t=9.9$, $P\approx0$), ou seja, a antecipação média, 6.6 (d.p. 10.0), é portanto significativamente diferente de zero.

O Quadro 6.1 descreve a distribuição da amostra parental e da amostra dos filhos pelos diferentes grupos de idade de início, tendo-se concluído que pais e filhos não representam, no que diz respeito à idade de início, amostras aleatórias da mesma população

(X^2_3=43.7, P≈0). Da mesma tabela podemos também observar que 71% dos progenitores têm uma idade de início abaixo dos 40 anos (ou seja, em idades clássicas), não estando a amostra enviesada pela predominância de progenitores tardios.

Quadro 6.1 Distribuição de idade de início na 1ª e 2ª geração de doentes

	Grupos de idade de início				
	22-29	30-39	40-49	≥ 50	Total
Progenitores (1ª geração)	39	64	24	18	145
Filhos (2ª geração)	113	93	21	0	227
Total	152	157	45	18	372

É importante notar que o extremo inferior da distribuição é semelhante para os pais e os filhos, ou seja, tanto para os progenitores como para os filhos o início faz-se sempre já na idade adulta. Contudo, a média da idade de início do conjunto dos progenitores (36.8) é, tanto para os pais como para as mães, ligeiramente superior à da amostra global dos doentes (33.5 anos), sugerindo que haja alguma selecção no grupo parental contra os doentes mais precoces.

b) A comparação dos pares de pais-filhos

Em 164 pares (72.2%), a idade de início era mais baixa na 2ª do que na 1ª geração e só em 54 se verificava o oposto. Nos 9 restantes não havia diferenças entre as gerações. Em 64 pares (28%), foi encontrada um antecipação superior a 10 anos. Quando considerada a antecipação num sentido restrito, a antecipação era positiva em 142 pares e negativa em 28; nos restantes pares variava entre -3 e +3 anos (Quadro 6.2).

Quadro 6.2 Grupos de antecipação segundo o sexo do progenitor transmissor

	Antecipação			
Transmissor	< -3	-3 ≤ ant ≤ 3	> 3	Total
Mãe	2	26	68	96
Pai	26	31	74	131
Total	28	57	142	227

Repeti a análise excluindo os 18 pares em que o início nos progenitores e nos filhos foi simultâneo (definido como uma diferença de 5 anos ou menos entre as duas ocorrências). Como era de esperar, foram excluídos casos correspondentes a grandes antecipações (no grupo dos pares excluídos, a antecipação variava entre 15 e 35 anos). Contudo, a antecipação média após esta exclusão, 5.1 anos, é significativamente diferente de zero (t_{208}=8.3, P=0). Não parece, pois, que a antecipação seja consequência de enviesamentos produzidos pelo início mais ou menos simultâneo entre pais e filhos.

c) Os grupos de idade de início nos progenitores e nos filhos

O Quadro 6.3 apresenta-nos a relação entre os grupos de idade de início dos progenitores e dos filhos para o grupo dos progenitores observados. Nesta amostra não encontrámos descendentes com início depois dos 48 anos, ou seja, não havia tardios no grupo dos descendentes (pelo facto de nenhum progenitor dos casos tardios ter sido também observado). A explicação para esta observação tem a ver com o facto de muitas vezes, *os progenitores dos casos tardios terem sido eles próprios tardios ou não terem manifestado sintomas de PAF* (apesar de não raras vezes terem morrido em idades avançadas), mas também pode reflectir o reconhecimento recente dos tardios.

Quadro 6.3 Distribuição de idade de início em 227 pares de pais-filhos

	Idade de início do progenitor					
Idade de início do filho	22-29	30-39	40-49	50-59	60-70	Total
20-29	31	62	14	4	2	113
30-39	20	43	12	12	6	93
40-48	6	2	6	0	7	21
Total	57	107	32	16	15	227

O Quadro 6.4 descreve a distribuição da idade de início em pares de pais-filhos, depois da idade de início dos progenitores apenas descritos mas não-observados (543 casos) ter sido estimada usando o modelo linear descrito nos métodos.

Quadro 6.4 Distribuição de idade de início em 770 pares de pais-filhos

	Idade de início do progenitor					
Idade de início do filho	22-29	30-39	40-49	50-59	≥ 60	Total
20-29	103	199	57	8	2	369
30-39	63	141	77	28	9	318
40-49	9	15	17	10	13	64
50-59	0	0	2	4	7	13
≥60	0	0	1	2	3	6
Total	175	355	154	52	34	770

Da observação da tabela resulta claramente que a antecipação é positiva na maior parte dos pares, que se encontram maioritariamente acima da diagonal principal. Dos 86 doentes com um progenitor tardio (início ≥ 50 anos), 47 tiveram início antes dos 40 anos, embora o contrário nunca se verifique. Apenas 19 dos casos tardios tinham um progenitor descrito como também tendo tido PAF: em 16 casos o progenitor tinha também tido um início tardio e apenas em 3 um início intermédio. Ou seja, em concordância com os nossos estudos anteriores, *não se encontrou nenhum caso tardio a descender de um progenitor clássico*.

d) O sexo do progenitor afectado

O Quadro 6.5 e o Quadro 6.6 descrevem a distribuição dos pares de pais-filhos observados segundo o sexo do progenitor afectado.

Quadro 6.5 Distribuição de idade de início em 96 pares de pais-filhos (descendentes de mães afectadas)

	Idade de início da mãe					
Idade de início do filho	22-29	30-39	40-49	50-59	60-70	Total
20-29	8	31	9	0	2	50
30-39	3	23	5	3	5	39
40-48	0	0	2	0	5	7
Total	11	54	16	3	12	96

Quadro 6.6 Distribuição de idade de início em 131 pares de pais-filhos (descendentes de pais afectados)

	Idade de início do pai					
Idade de início do filho	22-29	30-39	40-49	50-59	60-70	Total
20-29	23	31	5	4	0	63
30-39	17	20	7	9	1	54
40-48	6	2	4	0	2	14
Total	46	53	16	13	3	131

Verifica-se que há antecipação positiva na maioria dos pares. As células abaixo da diagonal principal são compostas pelos pares em que o início é mais tardio nos filhos do que nos progenitores: de um total de 28 doentes nessas circunstâncias, 25 tinham herdado a doença do pai (Quadro 6.6), e apenas 3 da mãe (Quadro 6.5); além disso, 20 daqueles são mulheres (dados não mostrados). A antecipação negativa parece pois ser mais frequente nas mulheres que herdaram a doença de um pai com início clássico ou mesmo precoce.

e) A distribuição da antecipação

A distribuição da antecipação da idade de início nos doentes em que o progenitor afectado é o pai segue uma distribuição Normal de média 4.5 e d.p. 9.7 (Figura 6.1) sugerindo que nestes casos a antecipação não é superior ao que seria de esperar devido à variação esperada da idade de início.

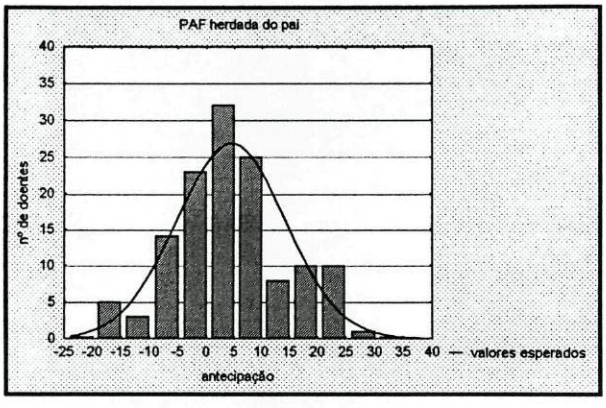


Figura 6.1 Distribuição empírica e ajuste à Normal da antecipação em doentes que herdaram a PAF do pai

Contudo, a antecipação não segue uma distribuição Normal nos casos que herdaram a doença das mães (média 9.5, d.p. 9.8 anos, Figura 6.2). Deverá ser testada a hipótese de os casos de grande antecipação corresponderem a uma segunda distribuição.

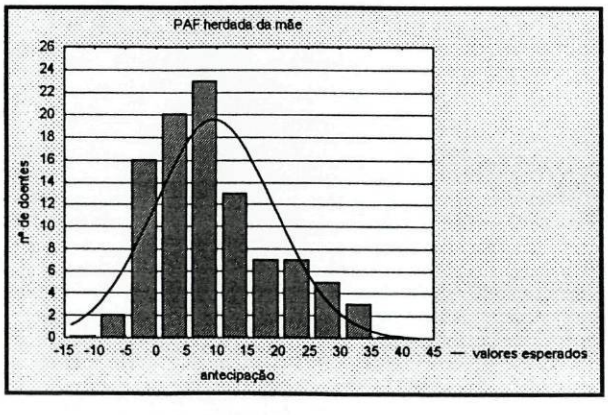


Figura 6.2 Distribuição empírica e ajuste à Normal da antecipação em doentes que herdaram a PAF da mãe

f) A antecipação segundo o sexo do progenitor afectado e o sexo do doentes

A análise de variância a dois factores (sexo e sexo do progenitor) mostrou que existe um efeito aditivo, sem interacção, destes dois factores: a antecipação é maior quando a doença é herdada da mãe e quando o filho é do sexo masculino. O Quadro 6.7 descreve as médias da antecipação para cada um dos quatro subgrupos.

Quadro 6.7 Antecipação (média ± dp) em 227 pares de pais-filhos

	Progenitor afectado		
Sexo do doente	Mãe	Pai	Total
Homens	11.5 ± 9.0 (59) [-5,35]	8.1 ± 8.3 (74) [-6,28]	9.6 ± 8.8 (133) [-6,35]
Mulheres	6.4 ± 10.2 (59) [-6,35]	-0.2 ± 9.5 (57) [-18,25]	2.4 ± 10.2 (94) [-18,35]
Total	9.5 ± 9.8 (96) [-6,35]	4.5 ± 9.7 (131) [-18,28]	6.6 ± 10.0 (227) [-18,35]

Com médias extremas estão os filhos de mães afectadas (11.5) e as filhas de pais afectados (-0.2). Estes resultados vão no mesmo sentido que os relativos às médias da idade de início segundo o sexo do progenitor e o sexo do próprio (Capítulo 5, pp 149).

g) A antecipação e a idade de início do progenitor

O Quadro 6.8 descreve a antecipação segundo o grupo de idade de início do progenitor, para descendentes de mãe afectada e para descendentes de pai afectado, sendo sempre mais elevada para aqueles.

Quadro 6.8 Antecipação (média ± d.p.) e grupo de idade de início do progenitor

Progenitor	Grupos de idade de início do progenitor				
	22-29	30-39	40-49	≥ 50	Total
Mãe	-0.4 ± 2.9 (11) [-5,4]	5.4 ± 5.0 (54) [-6,14]	14.6 ± 6.4 (16) [1,25]	26.3 ± 5.7 (15) [18,35]	9.5 ± 9.8 (96) [-6,35]
Pai	-3.0 ± 6.9 (46) [-18,7]	4.6 ± 5.4 (53) [-9,16]	9.1 ± 7.6 (16) [-5,18]	21.3 ± 3.8 (16) [13,28]	4.5 ± 9.7 (131) [-18,28]
Total	-2.5 ± 6.5 (57) [-18,7]	5.0 ± 5.2 (107) [-9,16]	11.8 ± 7.5 (32) [-5,25]	23.7 ± 5.3 (31) [13,35]	6.6 ± 10.0 (227) [-18,35]

Para os transmissores de ambos os sexos, parece haver uma relação linear entre a antecipação e a idade de início dos progenitores, ou seja, a antecipação é tanto maior quanto mais tardio tiver sido o início no progenitor. Embora haja outros grupos parentais para os quais também se possam eventualmente observar antecipações negativas, são sobretudo os descendentes de um pai com início precoce (antes dos 30 anos) que manifestam antecipação negativa, ou seja, têm, em média, um início mais tardio do que o seu pai.

h) Antecipação ou regressão para a média?

Se houvesse regressão para a média no sentido galtoniano do termo, os descendentes de progenitores com idade de início superior à média (no grupo dos progenitores) deveriam ter antecipação positiva (idade de início mais baixa do que a do progenitor afectado) e os filhos de progenitores com idades de início inferiores à média deveriam ter antecipação negativa (idade de início superior à do seu progenitor). Dito de outro modo, o ponto de antecipação zero deveria corresponder à média da idade de início do progenitor. A Figura 6.3 ilustra a regressão linear da antecipação na idade de início do progenitor afectado conforme o sexo do doente e o do progenitor afectado.

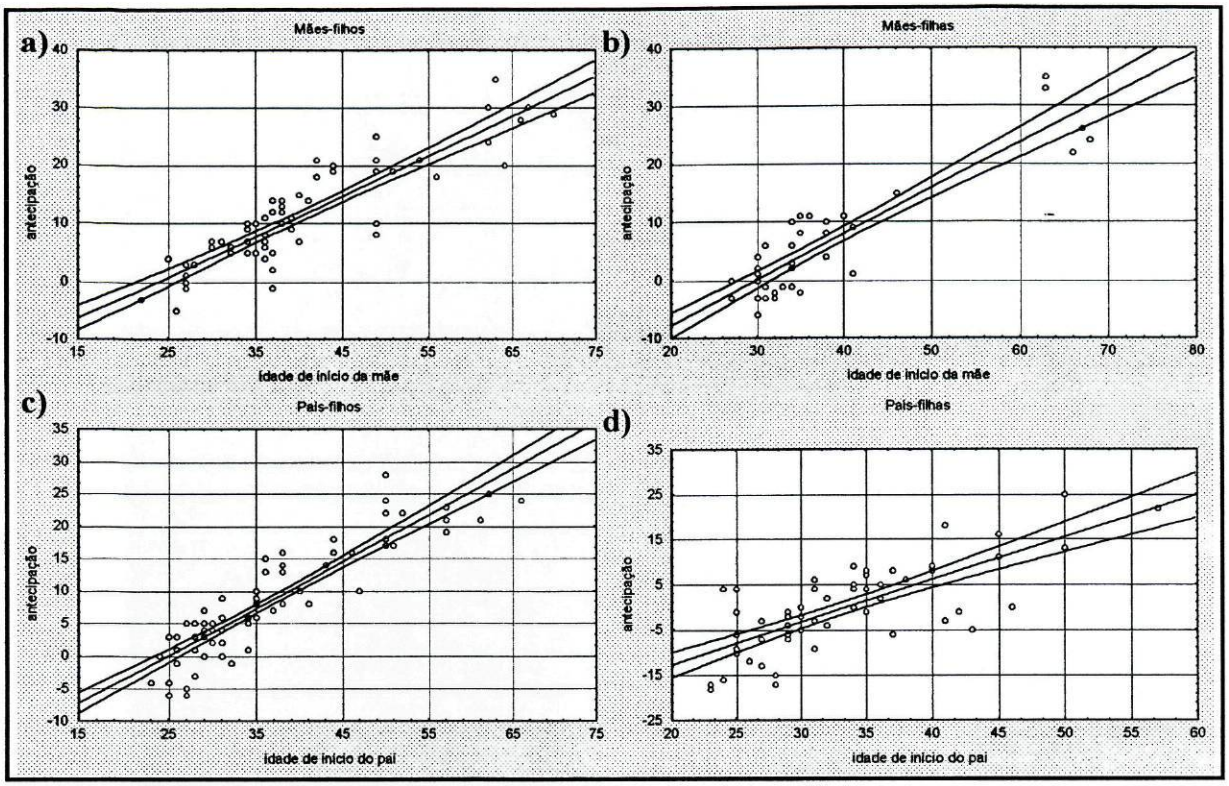


Figura 6.3 Regressão linear da antecipação na idade de início do progenitor: a) mães-filhos ; b) mães-filhas; c) pais-filhos e d) pais-filhas

À excepção das mulheres com pai afectado, que exibem o padrão típico da regressão para a média, em todos os outros grupos o ponto de antecipação zero está bastante abaixo da média da idade de início do progenitor. Isto significa que há descendentes de progenitores com uma idade de início abaixo da média que têm uma idade de início ainda mais baixa do que a do respectivo progenitor, não se podendo portanto falar de regressão para a média e dando força à hipótese da antecipação fazer parte da transmissão da PAF.

i) A procura de pares complementares

Verificámos que não havia nenhum caso tardio a descender de um clássico. Um argumento que pode ser utilizado é que essa observação resultaria de um enviesamento, dado que os possíveis filhos tardios dos doentes clássicos não tiveram ainda tempo de se manifestar. No entanto, os primeiros doentes (com início clássico) foram diagnosticados há mais de 50 anos, muitos deles já na altura tinham filhos e de nenhum desses doentes se conhece um filho tardio.

Os estudos de Höweler[8,15] e de Ashizawa[9], que analisam da forma mais completa possível um número reduzido de genealogias (14 e 9 respectivamente), procuraram responder a este problema examinando fratrias inteiras das gerações mais recentes, tendo concluído que a penetrância nessas famílias era completa, uma vez que, em média, 50% dos indivíduos já eram afectados, e portanto já não seria de esperar o aparecimento de pares complementares no futuro. No nosso estudo, é praticamente impossível fazer uma análise de penetrância para as fratrias, dado que estas não foram todas observadas nem o poderão vir a ser.

Pareceu-nos então apropriado que a procura dos pares complementares se fizesse retrospectivamente (método aliás também utilizado por Höweler e por Ashizawa), isto é, que se investigasse as idades de início ou de morte e a situação de afectado ou não afectado dos progenitores dos 96 doentes tardios da amostra global de doentes. Em 14 doentes tardios não havia informação disponível quanto às idades de morte de qualquer dos progenitores ou à sua situação na doença; 19 tinham um progenitor descrito como tendo morrido de PAF em idades entre os 51 e os 84 anos, dados esses que foram usados para estimar a sua idade de início (Quadro 6.4). Em 39 casos não foi possível identificar o transmissor, dado que ambos os progenitores tinham morrido sem sinais de doença e não se ligavam a nenhuma família conhecida: os progenitores de 22 desses doentes tinham ambos morrido depois dos 50 anos; quanto aos outros 17, morreram em idades variáveis, mas as mortes precoces deveram-se a outras causas (parto, tuberculose, afogamento, etc.). Havia ainda 24 doentes cujo progenitor transmissor (apesar de não-afectado) foi identificado, ou por laços familiares (19 casos) ou porque um deles tinha sido testado e reconhecido como portador assintomático do gene (5 casos). Se exceptuarmos dois casos em que os progenitores transmissores (uma mãe e um pai) morreram novos com tuberculose (tendo contudo irmãos afectados tardios), nenhum dos progenitores deste grupo tinha chegado a manifestar sintomas ou até à morte ou à data da última informação (idades que variavam entre os 60 e os 92 anos).

Ou seja, os progenitores dos casos tardios parecem também eles estar relativamente protegidos, quer manifestando eles próprios também um início tardio ou não chegando a apresentar sintomas mesmo em idades avançadas.

Nesta revisão retrospectiva de 96 casos tardios, não encontrámos portanto nenhum progenitor de início precoce, ou seja, *os pares complementares postulados por Penrose nunca foram observados*.

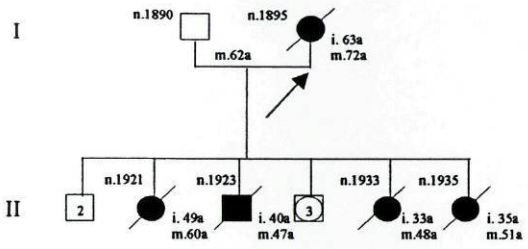
6.4. RESULTADOS DA ANTECIPAÇÃO NOS DOENTES SUECOS

Apenas alguns dos resultados que aqui se apresentam foram já publicados[31], no contexto de uma discussão geral sobre a investigação genealógica e o estudo da variabilidade fenotípica. A investigação genealógica permitiu ligar doentes que desconheciam qualquer parentesco entre si e construir grandes árvores familiares[31], em que muitas vezes, o topo de cada ramo que permitiu fazer a ligação é constituído por indivíduos de que não se conhecem sinais ou descrições da doença. Numa pesquisa feita no CD-ROM a seguir ao estabelecimento do grande pedigree da zona de Skellefteå (Figura 4.4), encontraram-se idades de morte muito tardias para a maioria desses antepassados ao longo de várias gerações (dados não mostrados), o que faz supor que em gerações mais remotas, o gene não se tenha manifestado.

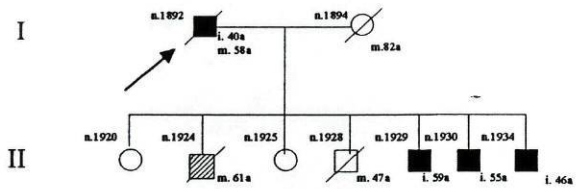
6.4.1. Análise de pedigrees

Na Família 6.14, a doença, herdada da mãe, manifesta-se por grandes antecipações da idade de início na segunda geração; a Família 6.15 apresenta os dois únicos casos em que a doença foi dez anos mais tardia nos filhos do que no progenitor, não chegando, mesmo assim, a apresentar-se como um início tardio nos filhos.

Família 6.14



Família 6.15



6.4.2. Análise quantitativa

De um total de 44 pares de pais-filhos, 29 filhos tinham herdado a doença da mãe (18 mães) e 15 do pai (6 pais). A idade de início dos 24 progenitores era de 53.8 anos (d.p. 9.6), não muito inferior à média geral dos doentes suecos (56.7), mas a idade de início nos filhos era significativamente mais baixa (média 42.0, d.p. 10.4). A idade de início era mais elevada nos progenitores que nos filhos em 37 pares. Contudo, este resultado não se deve ao início simultâneo entre pais e filhos, de que só encontrámos 3 pares. O intervalo entre o início nos progenitores e nos filhos era de 20 anos, em média.

A antecipação era diferente conforme o sexo do progenitor afectado: variava entre -1 e 32 (média 15.4, d.p. 7.8) para os filhos de mães afectadas e entre -19 e 27 (média 3.2, d.p. 14.4) para os filhos de pais afectados. Dos casos de grande antecipação (>10 anos), 19 em 23 eram herdados da mãe. Dada a dimensão reduzida da amostra, não foi possível investigar o efeito simultâneo do sexo do progenitor afectado e do próprio doente.

Apesar da amostra ser muito mais pequena, não se conhece nenhum caso com início particularmente tardio que tenha descrito a ocorrência precoce da doença num dos progenitores. Tal como na amostra dos doentes portugueses, os *pares complementares* nunca foram encontrados.

A Figura 6.4 apresenta o resultado da regressão linear da antecipação na idade de início do progenitor.

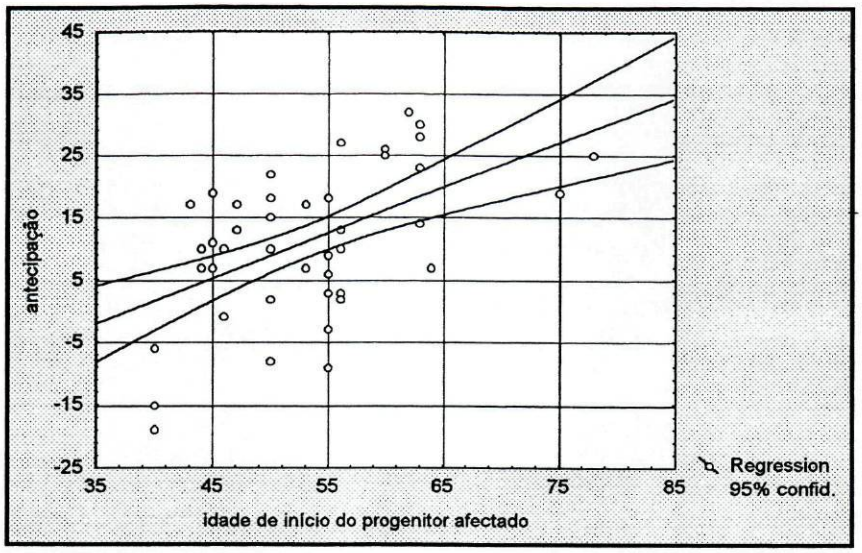


Figura 6.4 Regressão linear da antecipação na idade de início do progenitor nos doentes suecos.

O ponto de antecipação zero corresponde a uma idade de início no progenitor de 38.0 anos, enquanto que a média de idade de início do progenitor era de 53.8 anos. Não se pode por isso falar de regressão para a média.

6.5. DISCUSSÃO

6.5.1. A antecipação na PAF não é devida a enviesamentos

Apesar de ter sido usado o arquivo do CEP, construído ao longo de 50 anos, o que à partida minimiza os riscos de selecção da amostra, um dos objectivos deste estudo foi corrigir para as várias fontes de enviesamento sugeridas por Penrose[5]. O argumento da detecção preferencial de famílias com formas mais graves na 2ª do que na 1ª geração parece-nos o único que tem algum cabimento, dado que em 7 das famílias incluídas (9 pares), o progenitor transmissor encontrava-se ainda assintomático à data do diagnóstico do filho, ou seja, o transmissor começou a doença *depois* do filho. Mas vale a pena aqui lembrar que ficaram de fora do estudo quantitativo 23 doentes em que o progenitor era

portador assintomático (Família 6.1 e Família 6.2), e essa exclusão produz um enviesamento da amostra *contra* a antecipação.

A análise da antecipação foi repetida depois da exclusão dos pares com início mais ou menos simultâneo no progenitor afectado e no filho (segundo Penrose, a maior das fontes de enviesamento), tendo continuado a verificar-se uma antecipação média de 5.1 anos.

Este estudo, à semelhança dos nossos estudos anteriores[28,29], confirmou um efeito aditivo, sem interacção, do sexo do progenitor afectado e do sexo do doente, o que poderá ser compatível com o modelo multifactorial invocado no Capítulo 5 (pp. 161). Seria bastante difícil encontrar uma explicação para estas diferenças apenas baseada nos enviesamentos da selecção de famílias.

6.5.2. Os pares complementares

A hipótese central de Penrose sobre a antecipação era que os pares complementares (início precoce nos pais e tardio nos filhos) deveriam ser tão frequentes como os de início tardio nos pais e precoce nos filhos. Contudo, eles seriam sempre muito difíceis de detectar dado que exigiriam um longo período de tempo entre os dois acontecimentos, normalmente incompatível com o tempo de observação das famílias incluídas num dado estudo. Ou seja, a selecção das famílias favoreceria a inclusão dos pares de início tardio nos pais e precoce nos filhos, excluindo portanto aquelas em que o contrário se poderia ainda vir a verificar.

Como comenta Höweler[15], Penrose *postulou* a existência de pares complementares nas famílias com distrofia miotónica, mas nunca chegou a testar essa hipótese.

Uma das vantagens do uso do arquivo do CEP é a possibilidade de estudar indivíduos observados ao longo dos últimos 50 anos, o que significa que há algumas famílias com 3 ou mesmo 4 gerações de observados. Por outro lado, já teria havido tempo suficiente para terem aparecido pares complementares de doentes tardios descendendo de doentes

clássicos: como consta das descrições iniciais, os primeiros doentes apresentavam um início fundamentalmente entre os 25 e os 35 anos; além disso, muitos deles já tinham filhos quando foram observados (nalguns casos há mais de 50 anos) e não são conhecidos filhos tardios desses doentes.

Além disso, foi feita uma investigação sistemática e exaustiva das idades de início ou de morte dos progenitores dos 96 casos tardios que faziam parte da amostra global dos doentes: *nenhum* desses progenitores manifestou sintomas nas idades ditas clássicas. Poder-se-ia argumentar que nestes casos, e como passou muito tempo, a informação sobre os pais fosse confusa. Mas parece-me difícil ou mesmo impossível conceber que *nenhum* dos doentes com início tardio se lembrasse da doença ter ocorrido num dos progenitores de forma precoce. Pelo contrário, encontraram-se frequentemente casos tardios em que os progenitores tinham morrido em idades avançadas sem qualquer manifestação da doença.

Não podemos excluir a hipótese desses pares complementares se virem a manifestar ainda no futuro. Contudo, na revisão dos 38 portadores do gene que se encontravam assintomáticos com pelo menos 50 anos (ver Capítulo 5, pp. 140), ou seja, que se vierem a manifestar sintomas o farão já numa idade considerada tardia, não encontrei nenhum cujo transmissor tivesse tido um início clássico.

6.5.3. A regressão para a média e a antecipação negativa

A regressão da antecipação segundo a idade do progenitor demonstrou que não se tratava de uma simples regressão para a média: à excepção das filhas de pai afectado, cuja antecipação média não é significativamente diferente de zero, e que constitui o grosso dos pares em que a antecipação é negativa (21 em 28), em todos os outros grupos (pais-filhos, mães-filhas e mães-filhos) o ponto de antecipação zero no modelo linear correspondia a uma idade de início do progenitor abaixo da média.

Por outro lado, a antecipação negativa faz-se de forma gradativa, de progenitor clássico para filho intermédio ou quando muito, de progenitor intermédio para filho tardio

(Quadro 6.4). Não se conhecem antecipações negativas que possam repor as grandes antecipações observadas, dado que não se conhece nenhum clássico cujos filhos sejam tardios.

Contudo, há questões que possivelmente ficam sem resposta, pelo menos no âmbito das metodologias utilizadas. Se nos vários grupos de idade de início dos progenitores há casos de antecipação negativa (Quadro 6.8), especialmente quando o progenitor afectado é o pai, poderemos questionar-nos se algumas das filhas (portadoras comprovadas do gene) de pais tardios não terão também uma espécie de antecipação negativa. Esta hipótese dificilmente poderia ser testada, uma vez que será muito difícil que se consiga observar uma idade de início mais tardia nos filhos dos doentes tardios, em virtude do limite da esperança média de vida da população. Não é impossível imaginar que filhas de pais tardios se possam manter assintomáticas em idades muito tardias (possivelmente até à morte), como é sugerido pela Família 6.3, e possam ter contribuído para a manutenção e transmissão do gene ao longo de várias gerações.

6.5.4. Antecipação, fertilidade e extinção do gene

Outra das fontes de enviesamento sugeridas por Penrose era que haveria tendência para um registo preferencial de progenitores com início tardio, dado que em muitas doenças seria de esperar que a manifestação precoce e severa da doença tivesse repercussões na própria capacidade reprodutora dos indivíduos atingidos. Se apenas os casos de início tardio se reproduzissem, ou se houvesse uma grande diminuição de fertilidade nos casos de início mais precoce, haveria uma selecção a favor dos progenitores de início tardio, em virtude da qual os pares complementares nunca poderiam ser encontrados.

A primeira questão a esclarecer quando se fala de antecipação na PAF é o que se entende por casos de início precoce e casos de início tardio. Como já dissemos, o início só se fez abaixo dos 20 anos em três casos (um com 17 e dois com 19) em 1224 doentes

portugueses, e nunca abaixo dos 26 anos na Suécia (em 239 doentes), sendo por isso a PAF uma doença tipicamente da idade adulta, ao contrário, por exemplo, da doença de Huntington, da distrofia miotónica ou da doença de Machado-Joseph, em que são conhecidas formas juvenis ou mesmo infantis.

O argumento de que os doentes de início mais precoce não se viessem a reproduzir parece pois não ter muito cabimento na PAF, onde, quando falamos de início precoce, estamos a falar daquele que se faz entre os 20 e os 30 anos! Aliás, na nossa amostra, cerca de 70% dos progenitores tiveram um início clássico (sendo 27% de início precoce), enquanto que os de início tardio representam apenas 12% dos progenitores (Quadro 6.1).

A relação entre a idade de início e a fertilidade será tratada de uma forma quantitativa mais à frente, mas faz sentido desde já discutir a relação que poderá haver entre fertilidade, antecipação e extinção do gene. Nos pedigrees apresentados, observava-se várias vezes um efeito cumulativo da antecipação pelo menos em alguns dos ramos do pedigree. Mas, apesar de nalgumas (raras) famílias o gene se ter extinto, por não haver descendentes da última geração (Famílias 6.8 e Família 6.9), não é claro que isso seja uma consequência directa simples do abaixamento da idade de início, dado que noutras famílias (Família 6.7 e Família 6.10), mesmo homens com inícios precoces tiveram ainda alguns filhos. Se noutras doenças como na distrofia miotónica, faz sentido que as formas infantis ou juvenis, por serem mais graves clinicamente, se possam traduzir por uma fertilidade realmente diminuída, na PAF esse efeito é mais atenuado dado que o início só se faz em plena vida adulta.

Além disso, tanto nos pedigrees como na análise quantitativa verificámos que são as mulheres que, ao manifestarem uma antecipação negativa, de alguma forma repõem a antecipação verificada na geração anterior. Não é pois de excluir a hipótese de, apesar da fertilidade um pouco diminuída dos homens de início mais precoce, a maior fertilidade das mulheres seja suficiente para manter e até expandir o gene na população.

6.5.5. Que explicações para a antecipação na PAF?

A história controversa da antecipação nas doenças autossómicas dominantes de expressão variável, de que se fala na introdução deste capítulo, é sobretudo a história da negação da antecipação como fenómeno biológico e a sua redução a um produto de enviesamentos resultantes do tipo de selecção de famílias.

No que diz respeito à PAF, nem o olhar crítico de Becker escapou aos (pre)conceitos prevalecentes no seu tempo sobre a antecipação[17]. Apesar de ter observado a variabilidade da idade de início entre gerações, Becker resumiu-a à interpretação de Penrose, não tendo chegado a tratá-la quantitativamente (o que aliás seria difícil dado o reduzido número de doentes e de famílias de que dispunha na altura).

A questão da antecipação já deixou de ser um tabu, desde que se descobriram novos mecanismos biológicos até há pouco insuspeitados (mutações dinâmicas e, *genomic imprinting*) e nos estudos de correlações genótipo/fenótipo, se vem demonstrando que a expressão deste novo tipo de mutação, ou seja, a expansão do tamanho dos *repeats* está associada com a variabilidade da idade de início entre as gerações, nomeadamente com a antecipação: na distrofia miotónica, na doença de Huntington, na SCA1, na DRPLA, na doença de Kennedy e, mais recentemente, na doença de Machado-Joseph (ver pp. 114). Mas este novo mecanismo não pode ser erigido em explicação última para tudo.

Na PAF, o gene responsável pela expressão da doença, sequenciado há cerca de uma década[22], é uma mutação pontual clássica, pelo que a antecipação não está associada a uma mutação dinâmica num gene principal.

Contudo, como ficou demonstrado no capítulo 5 e neste, na PAF existe uma grande variabilidade de idade de início dentro da mesma família, tanto entre elementos da mesma fratria como, sobretudo, entre gerações. Essa variabilidade de expressão manifesta-se de forma brusca: o que se nos apresenta frequentemente é uma situação em que numa 1ª geração não houve manifestação de doença (apesar de ambos os progenitores terem

morrido em idades avançadas), na geração seguinte a doença manifesta-se tardiamente e na seguinte há uma grande antecipação e os filhos passam a ter um início clássico típico. Ou seja, a protecção que parecia estar presente nas primeiras gerações, uma vez perdida, parece irreversível. Os casos em que a idade de início é superior nos filhos do que no progenitor afectado são mais raros e nunca aparecem em pares extremos: há alguns progenitores clássicos que têm filhos com início intermédio e alguns (ainda mais raros) progenitores de início intermédio com filhos com início tardio (Quadro 6.4), mas *não se conhece nenhum progenitor de início clássico que tenha tido um filho com início tardio*.

Embora a investigação genealógica não tenha até agora permitido ligar entre si as várias famílias portuguesas, os estudos de haplótipos apontam para um acontecimento mutacional comum[32]. Apesar da informação muito variável nas famílias portuguesas de PAF, observou-se várias vezes que os antepassados mais remotos tinham morrido em idades bastante tardias, mesmo nas famílias em que nas gerações mais recentes só se conhecem casos de início clássico típico.

Na Suécia foram encontradas grandes árvores genealógicas cujos antepassados mais remotos tinham nascido no século 17 [31] (ver também Capítulo 4). Num estudo mais recente (dados não mostrados), encontrei idades de morte particularmente tardias nos antepassados dos doentes do pedigree SK1 (Figura 4.4), o que faz supor que o gene possa ter atravessado várias gerações sem uma expressão aberta e evidente da doença, ou pelo menos com manifestações muito tardias e benignas. Isto quer dizer que a mutação do gene pode não ter sido patogénica durante várias gerações. A PAF assemelha-se, deste ponto de vista, à distrofia miotónica[3,8,33,34].

Uma hipótese possível, que já foi discutida no Capítulo 5 (pp. 164) é que o(s) gene(s) modificador(es) eventualmente associados à variabilidade de expressão na PAF possam ser, eles sim, mutações dinâmicas.

O facto da antecipação variar conforme o sexo do próprio e o sexo do progenitor afectado, e da antecipação negativa ser quase exclusiva de filhas de pais-afectados precisa de um estudo mais aprofundado, quer do ponto de vista quantitativo, quer molecular.

Não pretendi ter encontrado nenhuma explicação total e final para a antecipação na PAF. Demonstrar a sua existência, depois de corrigir para as fontes de enviesamento que Penrose sugeriu há cerca de meio-século não significa necessariamente conseguir explicá--la. É apenas um primeiro passo.

6.6. BIBLIOGRAFIA

1 Harper PS, Harley HG, Reardon W, Shaw DJ. Anticipation in Myotonic Dystrophy: New Light on an Old Problem. *Am J Hum Genet* 1992;**51**:10-16.

2 Mott FW. Hereditary aspects of nervous and mental diseases. *BMJ* 1910;**2**:1013-1020.

3 Fleischer B. Über myotonische Dystrophie mit Katarakt: Eine hereditäre, familiäre Degeneration. *Arch Ophth* 1918;**96**:91-133.

4 Bell J. Dystrophia myotonica and allied diseases. In: Fisher R, (ed).*The Treasury of Human Inheritance*. London: Cambridge University Press, 1947:343-410.

5 Penrose LS. The problem of anticipation in pedigrees of Dystrophia Myotonica. *Ann Eugen* 1948;**14**:125-132.

6 Sutherland GR, Richards RI. Anticipation Legitimized: Unstable DNA to the Rescue. *Am J Hum Genet* 1992;**51**:7-9.

7 Ridley RM, Frith CD, Crow TJ, Conneally PM. Anticipation in Huntington's disease is inherited through the male line but may originate in the female. *J Med Genet* 1988;**25**:589-595.

8 Höweler CJ, Busch HFM, Geraedts JPM, Niermeijer MF, Staal A. Anticipation in Myotonic Dystrophy: fact or fiction? *Brain* 1989;**112**:779-797.

9 Ashizawa T, Dunne CJ, Dubel JR, Perryman MB, Epstein HF, Boerwinkle E, Hejtmancik JF. Anticipation in myotonic dystrophy. I. Statistical verification based on clinical and haplotype findings. *Neurology* 1992;**42**:1871-1777.

10 Harper PS, Dyken PR. Early-onset Dystrophia Myotonica: evidence supporting a maternal environmental factor. *Lancet* 1972;**ii**:53-55.

11 Harper PS. Congenital myotonic dystrophy in Britain. I. Clinical aspects. *Arch Dis Child* 1975;**50**:505-513.

12 van Dijk JG, van der Velde EA, Roos RAC, Bruyn GW. Juvenile Huntington disease. *Hum Genet* 1986;**73**:235-239.

13 Hayden MR, Soles JA, Ward RH. Age of onset in siblings of persons with juvenile Huntington disease. *Clin Genet* 1985;**28**:100-105.

14 Sherman SL, Jacobs PA, Morton NE. Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet* 1985;**68**:289-299.

15 Höweler CJ. *A clinical and genetic study in myotonic dystrophy*. 1986 (tese de doutoramento).

16 Ribeiro do Rosário M, Antunes L, Barros F. Contribuição para o estudo clínico e laboratorial da paramiloidose de Corino de Andrade. *J Soc Cien Méd* 1961;**75**:1-46.

17 Becker PE, Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F. Paramyloidose der peripheren Nerven in Portugal. *Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre* 1964;**37**:329-364.

18 Coutinho P, Silva AM, Lima LJ. Forty years of experience with type I amyloid neuropathy. Review of 483 cases. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds).*Amyloid and amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

19 Bastos Lima A, Martins da Silva A. Clinical evaluation of late-onset cases in Type I (Andrade) Amyloid Neuropathy. In: Glenner GG, Costa PP, Freitas AF, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:88-98.

20 Saraiva MJM, Costa PP, Birken S, Goodman DS. Presence of an abnormal transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Trans Ass Am Phys* 1983;**96**:261-270.

21 Saraiva MJM, Melhus H, Rego KS, Costa PP, Peterson PA, Goodman DS. Genetic studies on a human plasma transthyretin (prealbumnin) variant associated with familial amyloidotic polyneuropathy. In: Peeters H, (ed).*Protides of the Biological Fluids*. Oxford: Pergamon Press, 1985:127-130.

22 Sasaki H, Yoshioka N, Takagi Y, Sakaki Y. Structure of the chromosomal gene for human serum prealbumin. *Gene* 1985;**37**:191-197.

23 Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS. Genetic expression of a transthyretin mutation in typical and late-onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 1986;**36**:1413-1417.

24 Sequeiros J, Saraiva MJM. Onset in the Seventh Decade and Lack of Symptoms in Heterozygotes for the TTR Met30 Mutation in Hereditary Amyloid Neuropathy-TypeI (Portuguese, Andrade). *Am J Med Genet* 1987;**27**:345-357.

25 Sousa A, Lobato L, Sequeiros J. Início tardio na neuropatia amiloidótica hereditária - tipo I (português, Andrade) - Variação familiar e modelos genéticos. *Boletim do Hospital (HGSA,Porto)* 1988;**3**:63-69.

26 Lobato L, Teixeira F, Sousa A, Sequeiros J. Genetic Study of Late-Onset in Hereditary Amyloid Neuropahty (HAN) - Type I (Portuguese, Andrade). In: Isobe T, Araki A, Uchino F, Kito S, Tsubura E, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. New York: Plenum Press, 1988:441-446.

27 Sousa A, Lobato L, Sequeiros J. Age-of-onset in hereditary amyloid neuropathy (HAN) - type I (Portuguese, Andrade): familial variation, sex influence, late-onset and genetic models. *Am J Hum Genet* 1988;**43 (3) Suppl. A222**:(Abstract)

28 Sousa A, Coelho T, Lobato L, Sequeiros J. Anticipation of age-of-onset in familial amyloidotic polyneuropathy (Portuguese Type). In: Natvig J, Forre O, Husby G, et al, (eds).*Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990:694-697.

29 Sousa A, Coelho T, Lobato L, Sequeiros J. Parental transmission and anticipation of age-of-onset in FAP-I. *Am J Hum Genet* 1991;**49 (Suppl) A 2757**:(Abstract)

30 Sousa A, Coelho T, Morgado R, Coutinho P. Statistical Analysis of Factors which may influence the duration of Familial Amyloidotic Polyneuropathy Type I. In: Costa PP, Freitas AF, Saraiva MJ, (eds).*Familial Amyloidotic Polyneuropathy and other transthyretin related disorders*. Porto: Arquivos de Medicina, 1990:351-355.

31 Drugge U, Andersson R, Chizari F, Danielsson M, Holmgren G, Sandgren O, Sousa A. Familial amyloidotic polyneuropathy in Sweden: A pedigree analysis. *J Med Genet* 1993;**30**:388-392.

32 Almeida MR, Aoyama-Oishi N, Sakaki Y, Holmgren G, Drugge U, Ferlini A, Salvi F, Munar-Quès M, Benson MD, Skinner M, Costa PP, Saraiva MJ. Haplotype analysis of common transthyretin mutations. *Hum Genet* 1995;(In Press)

33 Harper PS. *Myotonic Dystrophy*. London: Saunders,W.B., 1989;

34 Bouchard G, Roy R, Declos M, Mathieu J, Kouladjian K. Origin and Diffusion of the Myotonic Dystrophy Gene in the Saguenay Region (Quebec). *Can J Neurol Sci* 1989;**16**:119-122.

7. A FERTILIDADE E A *FITNESS*: UMA VANTAGEM SELECTIVA PARA OS HETEROZIGOTOS?

7.1 INTRODUÇÃO

Apesar de, já no início dos anos sessenta, Becker[1] ter chamado a atenção para a importância de estudar a fertilidade dos doentes de PAF, não surgiu até agora nenhum estudo global sobre a fertilidade e a *fitness* destes doentes, nem em Portugal nem em nenhum dos outros países onde há focos conhecidos de PAF.

Para além da importância do assunto para a análise genética desta doença, houve ainda outras razões que me moveram e que surgiram do cruzamento deste tema com outros já estudados. Em primeiro lugar, este estudo vem no seguimento da análise da antecipação da idade de início; por isso, um dos seus objectivos foi relacionar a idade de início com a fertilidade. Na realidade, se verificássemos que havia um grupo de doentes que nunca se reproduziam devido à interferência da manifestação da doença na sua fertilidade, ou seja, se só os doentes com início particularmente tardio fossem capazes de se reproduzir, quando estudámos a antecipação teríamos estado em presença de uma amostra enviesada;

faria então sentido a interpretação clássica da antecipação, ou seja, um produto dos enviesamentos resultantes da forma de selecção das famílias. Pareceu-me então importante estudar a relação da fertilidade com a idade de início, procurando eventuais diferenças entre homens e mulheres doentes.

Em segundo lugar, tínhamos constatado anteriormente que havia mais doentes que herdavam a PAF da mãe que do pai (pp. 146), e tornava-se por isso importante procurar se este desvio em relação à hereditariedade mendeliana se deveria a eventuais diferenças de fertilidade entre os homens e as mulheres doentes.

Finalmente, uma vez que foram encontrados valores muito elevados para a prevalência da PAF nos concelhos da Póvoa/Vila do Conde (pp. 71-72), que além disso tem vindo a aumentar em anos recentes, pareceu-me importante investigar se essa prevalência elevada poderia estar relacionada com uma *genetic fitness* maior no grupo de doentes que na população geral. Nestas condições de menor viabilidade destes doentes (cuja sobrevida é muito inferior à da população geral), poderá haver uma vantagem selectiva expressa em termos de fertilidade aumentada.

Foram estas as razões principais que me levaram a estudar a fertilidade na PAF, utilizando para isso as famílias da zona da Póvoa e Vila do Conde, sobre as quais a informação é mais antiga e mais completa.

7.2 SUJEITOS E MÉTODOS

Pelas razões já expostas no Capítulo 3 e que se prendem com a homogeneidade cultural e homogeneidade do ponto de vista da mutação genética associada a esta doença, os doentes incluídos neste estudo são os residentes na área da Póvoa de Varzim/Vila do Conde.

Para tentar responder às questões acima enunciadas foram desenvolvidas duas metodologias diferentes.

7.2.1 COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS DE FERTILIDADE DOS HOMENS E DAS MULHERES DOENTES COM PAF

A primeira metodologia consistiu em: 1) comparar a fertilidade dos homens e das mulheres doentes e relacioná-la com a idade de início; 2) comparar homens e mulheres quanto à idade ao nascimento do primeiro filho e amplitude do período reprodutor. Para isso, do grupo dos 330 doentes residentes na Póvoa ou Vila do Conde à data do diagnóstico, seleccionámos a sub-amostra dos 206 doentes que já tinham completado o seu período reprodutor, ou por já terem falecido, ou por terem pelo menos 45 anos à data da última observação (limite de idade que é geralmente utilizado em populações humanas para classificar os indivíduos de "emeritus", ou seja, que já não se reproduzem).

Apenas incluímos no estudo os indivíduos cuja informação sobre a história reprodutora fosse completa, ou seja, em relação aos quais fosse conhecido o *número total de filhos nados-vivos*. Para obter essa informação revimos todos os processos clínicos e histórias familiares daqueles 206 doentes. Surgiram naturalmente algumas dificuldades na fiabilidade dos dados, uma vez que nalguns casos a última informação disponível sobre o número de filhos era anterior à data de morte ou ao atingimento dos 45 anos de idade, permanecendo portanto a dúvida se esses casos se teriam ainda reproduzido depois da data a que se refere essa informação. Foram portanto excluídos deste estudo 58 casos por informação incompleta ou contraditória. Excluí ainda dois outros doentes casados entre si, ficando assim com uma amostra de estudo de 146 doentes.

A fim de completar a informação sobre alguns doentes já falecidos, foi ainda contactado, sempre que possível, um outro membro da família (irmãos ou filhos). Este tipo de recolha de dados poderá pois ter levado a um enviesamento da amostra a favor dos doentes com mais filhos, especialmente pertencentes às gerações mais antigas, dado que estes serão mais facilmente detectáveis (através dos seus descendentes) que os indivíduos afectados que não tiveram nenhum ou apenas um pequeno número de descendentes.

A amostra assim seleccionada tem no entanto a vantagem de só considerar os indivíduos cujo período reprodutor já estava completo, o que permite estudar de que forma o início da doença, variável de doente para doente, interfere com a sua capacidade reprodutora "final". Mas o problema em usar uma amostra deste tipo é encontrar um grupo de controlo adequado, visto que estes doentes não só nasceram em períodos diferentes como morreram (ou estavam vivos) em períodos diferentes. Dado que têm uma sobrevida diferente da população geral, não lhe são directamente comparáveis.

7.2.2 COMPARAÇÃO COM UM GRUPO CONTROLO - OS DADOS DO CENSO DE 1991

Por isso, usei uma segunda metodologia que consistiu em comparar a fertilidade das mulheres doentes com a das mulheres da população geral, usando os dados do censo de 1991. Para isso, seleccionou-se a sub-amostra das 58 mulheres da Póvoa/Vila do Conde que faziam parte da amostra prevalente de 1991 (ou seja, que estavam vivas e doentes em 1991), quer tivessem ou não completado o seu período reprodutor.

Começou-se por fazer uma análise global dos dados, comparando a fertilidade das doentes com PAF com a das mulheres da população geral da Póvoa de Varzim e Vila do Conde, pertencentes aos mesmos grupos etários (25-59 anos de idade). Uma vez que os resultados do censo são apresentados de forma separada por estado civil, foram feitas em seguida comparações entre as 46 doentes casadas e as mulheres casadas da população geral, e entre as 52 doentes não-solteiras e as mulheres não-solteiras da população geral.

A *fitness* reprodutiva foi definida, para o segundo tipo de comparação, como o quociente entre o número médio de filhos das doentes com PAF e o número médio de filhos das mulheres da população controlo.

7.3 RESULTADOS

7.3.1 USO DA AMOSTRA DOS DOENTES DE AMBOS OS SEXOS CUJO PERÍODO REPRODUTOR ESTAVA JÁ COMPLETO

a) Caracterização da amostra

A distribuição dos doentes por ano de nascimento e sexo encontra-se descrita no Quadro 7.1. Embora a razão homem/mulher seja semelhante à amostra global da Póvoa/Vila do Conde (Quadro 3.3), a sua distribuição pelas diferentes décadas de nascimento não é sobreponível àquela. O facto de haver poucas mulheres nas coortes mais recentes é facilmente compreensível: só farão parte desta amostra os doentes que já tenham morrido (visto que os vivos ainda não tiveram a possibilidade de chegar aos 45 anos), o que é mais provável que aconteça nos homens doentes, que adoecem e morrem mais jovens. No período de tempo mais distante, a razão homem/mulher é muito superior à da amostra global dos doentes da Póvoa/Vila do Conde, por ter sido mais difícil confirmar a informação relativa às mulheres doentes nascidas nessas décadas.

Quanto à idade de início deste grupo de doentes (Quadro 7.1), embora ligeiramente superior à do conjunto dos 330 doentes desta área, não indicia nenhum enviesamento sério favorecendo a inclusão de casos com início mais tardio (e assemelha-se à da amostra truncada descrita no Capítulo 3). Essa diferença parece, pois, ser sobretudo o resultado de uma correcção para um efeito de coorte: pelos critérios utilizados para inclusão neste estudo, estamos obviamente a excluir uma parte dos doentes mais jovens que ainda não atingiram o fim do período reprodutor, mas que ainda estão vivos e tiveram um início precoce.

Quadro 7.1 Distribuição dos doentes por ano de nascimento e sexo - conjunto dos doentes cujo período reprodutor estava completo

Ano de nascimento	Sexo			
	Homens	Mulheres	Total	Razão
1898-1920	17	6	23	2.8
1920-1929	14	9	23	1.6
1930-1939	19	16	35	1.2
1940-1949	20	30	50	0.7
1950-1959	12	2	14	6.0
1960-1969	1	-	1	-
Total	83	63	146	1.3
Média da idade de início	29.7	34.8	31.9	
[amplitude]	[20-57]	[23-50]	[20-57]	

b) Comparação da fertilidade em homens e mulheres doentes

Do total de 146 doentes, havia 17 (10 homens e 7 mulheres, uma proporção semelhante à da amostra geral) que ficaram solteiros. A distribuição do tamanho das famílias nos 129 doentes casados encontra-se descrita no Quadro 7.2. De notar que houve 7 homens casados que nunca se reproduziram, enquanto todas as mulheres casadas tiveram pelo menos um filho. Além disso, as famílias mais numerosas (com pelo menos 5 filhos) parecem mais ser oriundas das mulheres que dos homens doentes.

Quadro 7.2 Distribuição dos doentes pelo tamanho das famílias e sexo - doentes casados cujo período reprodutor estava completo

	Sexo		
Nº total de filhos	Homens	Mulheres	Total
0	7	0	7
1	9	7	16
2	16	10	26
3	13	10	23
4	13	7	20
≥5	15	22	37
Total de doentes	73	56	129
Nº médio de filhos	3.1	4.1	3.5

Os parâmetros relativos à fertilidade dos doentes (homens e mulheres) encontram-se descritos no Quadro 7.3 e é de salientar que:

a) há 17 homens e apenas 7 mulheres doentes que não tiveram filhos.

b) as doentes têm um número médio de filhos significativamente superior ao dos homens doentes (3.7 versus 2.7; t_{144}=2.41, P≈ 0.01).

c) as doentes têm também uma duração do período reprodutor significativamente superior à dos homens doentes (8.4 versus 5.6 anos; t_{114}=2.89, P≈0.002). Uma vez que não se encontraram diferenças significativas entre homens e mulheres doentes quanto à idade ao nascimento do primeiro filho, o maior número de filhos de mulheres afectadas deve-se ao facto de terem um período reprodutor mais longo, o que está provavelmente associado ao início mais tardio da doença nas mulheres, bem como ao aparecimento da impotência nos homens numa fase precoce da doença.

Quadro 7.3 Parâmetros de fertilidade em ambos os sexos (indivíduos já falecidos ou com idade superior a 45 anos).

	Sexo		
	Homens	Mulheres	Total
Nº de doentes	83	63	146
Nº total de filhos	225	232	457
Nº médio de filhos	2.7	3.7	3.1
[amplitude]	[0-9]	[0-9]	[0-9]
Nº de doentes sem filhos	17	7	24
Nº de doentes com pelo menos um filho	66	56	122
Nº médio de filhos em doentes férteis	3.4	4.1	3.7
Idade média ao nascimento do 1º filho	23.6	23.1	23.3
[amplitude]	[16-33]	[18-33]	[16-33]
Idade média ao nascimento do último filho	29.2	31.4	30.2
[amplitude]	[22-46]	[18-47]	[18-47]
Duração média do período reprodutivo	5.6	8.4	6.9
[amplitude]	[0-18]	[0-23]	[0-23]
Média de idade de início	29.7	34.8	31.9

Os 122 doentes que se reproduziram contribuíram com 457 descendentes para a geração seguinte. Dado que se espera que cerca de metade sejam portadores, os 146 doentes (dos quais 24 não tiveram nenhum filho) poderão ter dado origem a 228 novos portadores do gene.

c) Relação da fertilidade com o início da doença

O Quadro 7.4 descreve o número total de filhos e o número de filhos nascidos antes do início da doença e refere-se, portanto, aos doentes com pelo menos um filho. Foram excluídos 9 doentes (um total de 31 filhos) cuja informação quanto ao ano de nascimento dos filhos era incompleta, o que impossibilitava o estabelecimento do número de filhos nascidos antes do início. Para fazer esta contagem foram usados dois critérios:

a) foram contabilizados como nascidos antes do início da doença os filhos que nasceram no próprio ano de início;

b) esses mesmos filhos foram contabilizados como tendo nascido depois do início da doença nos progenitores.

Verificámos que, para ambos os sexos e em percentagens equivalentes, a esmagadora maioria dos filhos (87% e 85%) nasceu antes do início dos sintomas, ou seja, quando a doença se manifestou as famílias dos doentes estavam já praticamente completas. Estes resultados estão ainda de acordo com os do Quadro 7.3, em que a idade média ao nascimento do último filho é próxima do início da doença nos homens, talvez devido à impotência, mas antecede em cerca de três anos o início da doença nas mulheres.

Quadro 7.4 Relação da fertilidade com o início da doença- doentes com pelo menos um filho e informação completa sobre o ano de nascimento dos filhos

	Sexo		
	Homens	Mulheres	Total
Nº de doentes	59	54	113
Nº total de filhos	194	223	417
Nº médio de filhos	3.3	4.1	3.7
Nº de filhos nascidos antes do início da doença (%)			
a)	164 (85)	195 (87)	359 (86)
b)	153 (79)	183 (82)	336 (81)
Nº médio de filhos nascidos antes do início			
a)	2.8	3.6	3.2
b)	2.6	3.4	3.0

Quando o ano de início coincidia com o ano de nascimento de um dos filhos, contava-se este como tendo nascido antes (a) ou depois (b) do início da doença no progenitor.

d) Relação da fertilidade com a idade de início da doença

A Figura 7.1 descreve o número médio de filhos dos homens e das mulheres doentes segundo o grupo de idade de início destes. O número de doentes em cada grupo é relativamente pequeno, estando portanto mais sujeito a efeitos de amostragem. Mas o que parece evidente é que nas idades de início mais precoces há diferenças entre homens e mulheres quanto ao número médio de filhos, enquanto que essas diferenças tendem a

esbater-se ou mesmo a inverter-se quando o início da doença se faz mais tardiamente. Ou seja, parece mais claro que o início mais precoce afecta predominantemente os homens em termos da sua capacidade reprodutora.

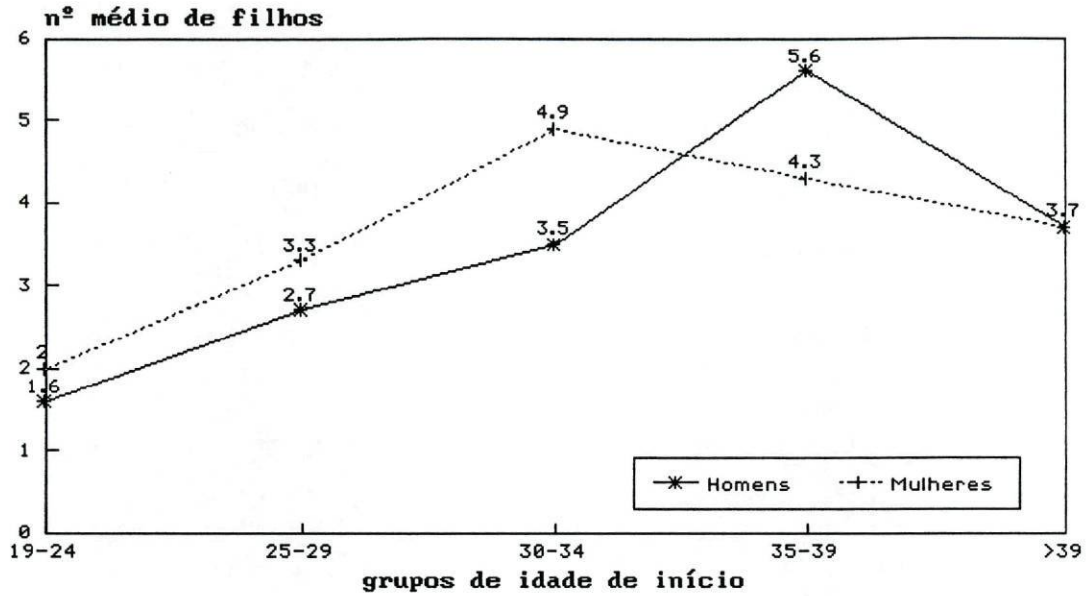


Figura 7.1 Fertilidade por sexo e grupo de idade de início

É importante salientar que os doentes *sem filhos* se distribuem pelos vários grupos de idade de início, parecendo portanto relacionar-se, pelo menos em alguns casos, com outros factores ou opções que não a interferência directa da doença na capacidade reprodutora.

7.3.2 USO DA AMOSTRA DE MULHERES VIVAS EM 1991 E COMPARAÇÃO DA SUA FERTILIDADE COM A DA POPULAÇÃO GERAL

a) Caracterização da população geral e da amostra das mulheres doentes

O Quadro 7.5 descreve as características de fertilidade das mulheres doentes e das mulheres da população geral dos concelhos da Póvoa do Varzim e Vila do Conde, vivas em 1991 e com idades entre os 25 e os 59 anos (os grupos etários das doentes de PAF). O número médio de filhos das mulheres doentes é sempre superior ao das mulheres da população geral, quer quando comparado globalmente (2.47 vs. 2.25), quer quando

considerámos as mulheres não-solteiras (2.71 vs. 2.51) ou apenas as mulheres casadas (2.76 vs. 2.46); ou seja, a *fitness* reprodutora é de 1.1 para o conjunto das mulheres doentes (1.08 para as doentes não-solteiras e 1.12 para as doentes casadas).

Quadro 7.5 Comparação da fertilidade das mulheres doentes com PAF e das mulheres da população geral vivas em 1991 (25-59 anos)

	Global		Mulheres não solteiras		Mulheres casadas	
	PAF	População Geral	PAF	População Geral	PAF	População Geral
Total de mulheres	58	27426	52	24419	46	21849
Total de filhos	143	61808	141	61334	127	53863
Nº médio de filhos	2.5	2.3	2.7	2.5	2.8	2.5
fitness relativa	1.1		1.08		1.12	

b) A comparação entre mulheres casadas doentes e da população geral

Quanto às mulheres casadas, que representam 80% da amostra, podemos observar que o número médio de filhos das doentes é quase sempre semelhante ou superior ao da população geral nos vários grupos etários, à excepção do último. Contudo, estas comparações são difíceis de fazer, devido à sobrevida diferente das mulheres doentes e da população geral: uma parte das mulheres doentes de cada uma das diferentes coortes já não se encontra representada na população geral (nem faz parte desta amostra) por ter morrido entretanto, o que é particularmente importante no caso das mulheres mais velhas, com pelo menos 45 anos em 1991 (Quadro 7.6).

Quadro 7.6 Número de filhos de mulheres casadas com PAF e de mulheres casadas na população geral da Póvoa de Varzim e Vila do Conde.

Grupo etário (anos)	População com PAF			População geral		
	Nº de mulheres	Nº de filhos	Nº médio de filhos	Nº de mulheres	Nº de filhos	Nº médio de filhos
25-29	1	1	1.00	3743	4912	1.31
30-34	4	10	2.50	3828	7203	1.88
35-39	12	26	2.17	3756	8625	2.29
40-44	17	55	3.24	3265	8580	2.63
45-49	10	29	2.90	2765	8440	3.05
50-54	1	4	4.00	2410	8291	3.44
55-59	1	2	2.00	2082	7812	3.75
Total	46	127	2.76	21849	53863	2.46

Se considerarmos agora todas as mulheres da mesma coorte, vivas ou já falecidas com pelo menos 45 anos de idade (que já acabaram o período reprodutor, segundo a definição que utilizei) o seu número médio de filhos é de 3.4, ou seja, o mesmo que o da população geral da mesma coorte.

c) A relação entre a idade de início e a fertilidade

O número médio de filhos por grupo de idade de início (apenas mulheres casadas) encontra-se descrito no Quadro 7.7. Estas mulheres tiveram uma idade média de início de 34.09, ou seja, próxima do grupo geral das mulheres afectadas. À excepção das mulheres com início particularmente precoce (antes dos 30 anos), todas as outras tiveram um número médio de filhos (2.76) superior ao das mulheres da população geral (2.46), ou seja, a doença parece só interferir com a reprodução nos casos em que o início dos sintomas for precoce, e mesmo assim, a diferença para a população geral é pequena.

Quadro 7.7 Mulheres doentes e casadas vivas em 1991

Idade de início	Número médio de filhos	Número de mulheres
25-29	2.3 [0-6]	10
30-34	2.8 [1-6]	17
35-39	3.0 [1-7]	14
40-49	2.8 [2-5]	5
Média da idade de início	**Número médio de filhos**	**Total de mulheres**
34.09	2.76	46

7.4 DISCUSSÃO

Uma vez que este é o primeiro estudo sobre a fertilidade dos doentes de PAF, não é possível comparar estes resultados com outros. Contudo, faz sentido discutir, não só estes resultados preliminares, como as possíveis debilidades e insuficiências deste estudo, apontando para outro tipo de estudos a fazer no futuro.

7.4.1 A SELECÇÃO DE SUJEITOS

Os sujeitos incluídos neste estudo foram seleccionados a partir da amostra de 330 doentes registados no CEP e que residiam na Póvoa/Vila do Conde na altura do diagnóstico.

Segundo o primeiro método utilizado, incluímos apenas os doentes (vivos ou mortos) cujo período reprodutor já estava completo, ou por morte ou por terem pelo menos 45 anos à data da última observação, tendo excluído todos aqueles em que não havia informação segura e completa sobre a sua história reprodutora. Uma vez que, em vários casos, a informação sobre a história reprodutora foi obtida junto de familiares, poder-se-ia recear um enviesamento em favor dos casos com (mais) filhos, especialmente das gerações mais antigas, (dado que esses casos seriam mais facilmente descritos através de filhos do que os

que tivessem tido poucos filhos ou os que não teriam chegado a reproduzir-se). A análise da distribuição do tamanho das famílias por década de nascimento dos doentes (dados não mostrados) não parece demonstrar nenhuma sub-representação de casos sem filhos nascidos nas décadas mais antigas, embora não seja de excluir que em geral possa haver um ligeiro enviesamento a favor das famílias com mais filhos.

Uma das questões que se pode colocar é sobre o critério usado para estabelecer o fim do período reprodutor, uma vez que claramente há doentes que deixam de se poder reproduzir antes de atingirem os 45 anos de idade: os homens por ficarem irreversivelmente impotentes e as mulheres por decidirem recorrer a uma laqueação de trompas. Contudo, a aplicação deste critério de inclusão revelou-se impraticável, pela impossibilidade de confirmação deste tipo de informação em todos os doentes.

Na segunda metodologia comparámos a fertilidade das doentes vivas em 1991 com a das mulheres da população geral, usando os dados do censo de 1991. Não estudámos a fertilidade dos homens vivos em 1991, por não haver controlos comparáveis, uma vez que os resultados do censo apenas contêm informação sobre as mulheres. Contudo, pode argumentar-se que a população geral dos dois concelhos não constitui exactamente um grupo de controlo, dado que é demasiado heterogénea quando comparada com a população em que a doença se manifesta. Um grupo de controlo mais adequado, em estudos futuros, poderiam ser vizinhos ou famílias (claramente não-afectadas) residentes nas mesmas freguesias destes doentes.

7.4.2 AS DIFERENÇAS DE FERTILIDADE ENTRE OS HOMENS E AS MULHERES DOENTES

Um dos resultados importantes deste estudo é a comparação do efeito da doença na manifestação da capacidade reprodutora dos indivíduos afectados de ambos os sexos. De notar que encontrámos sete homens casados que não se chegaram a reproduzir, *enquanto todas as mulheres casadas tiveram pelo menos um filho*. Além disso, as mulheres doentes parecem ter famílias mais numerosas do que os homens doentes. O número médio de filhos

é significativamente inferior nos homens doentes, o que parece dever-se a um efeito combinado de uma manifestação mais precoce de sintomas nos homens (diferente sobrevida), com a diminuição da fertilidade destes depois do início da doença, devido à manifestação precoce de impotência. Ou seja, mesmo o início precoce parece afectar diferentemente os homens e as mulheres doentes (Quadro 7.1), reduzindo mais a fertilidade dos homens do que a das mulheres.

A idade dos homens doentes à data do nascimento do primeiro filho não é significativamente diferente da das mulheres doentes: as idades diferentes à data do nascimento do último filho, porém, devem-se a um período reprodutor mais curto nos homens que nas mulheres doentes.

Em qualquer dos casos, os doentes com o período reprodutor completo (146) poderão ter dado origem a 228 novos portadores do gene, ou seja, uma proporção de 1:1.6. Estes números particularmente elevados parecem demonstrar que a doença se encontra de facto em expansão na área da Póvoa de Varzim/Vila do Conde (ver Capítulo 3).

7.4.3 A FERTILIDADE, A IDADE DE INÍCIO E A EXPANSÃO DA DOENÇA

Contrariamente a outras doenças autossómicas dominantes de início tardio habitual, cuja manifestação se pode fazer logo na infância em certos casos (distrofia miotónica, doença de Huntington ou doença de Machado-Joseph), na PAF só se conhecem, até agora, casos com manifestação na idade adulta. Seria pois de esperar que não tivesse grande impacto na fertilidade dos doentes. De notar que, pelo menos nesta população, tanto os homens como as mulheres doentes começam a ter filhos bastante cedo (cerca dos 23 anos). Por outro lado, a doença surge numa altura em que as famílias estão praticamente completas, dado que 86% do número total de filhos nasceu antes do início da doença nos progenitores (Quadro 7.4). Se é verdade que a idade média de início nos homens doentes é muito próxima do fim do período reprodutor (Quadro 7.3), podendo este ser influenciado pelo próprio aparecimento da doença, as mulheres doentes, com um início mais tardio (cerca de

três anos, em média, depois do nascimento do último filho), não parecem ter qualquer alteração na sua capacidade reprodutora pelo aparecimento da doença. A eventual diminuição da fertilidade nos homens doentes com início mais precoce não é pois suficiente para limitar a expansão do gene nesta população, que parece pois ser mais frequentemente transmitido pelas mulheres. Estes resultados estão em concordância com o sugerido por Becker, quando afirmava que apesar das perdas por selecção, o início mais tardio e a penetrância incompleta no sexo feminino poderiam explicar o aumento de portadores que acompanhou o crescimento da população da Póvoa do Varzim e Vila do Conde nos últimos 150 anos[1].

7.4.4 AS COMPARAÇÕES COM GRUPOS DE CONTROLO

Neste estudo apenas foi comparada a fertilidade das mulheres doentes vivas em 1991 com a população geral, usando os dados do censo. Os resultados mostram, para todos os grupos etários considerados, que o número médio de filhos das doentes com PAF é superior ao do grupo de controlo utilizado. As razões que poderão explicar este resultado precisam de ser investigadas no contexto sócio-cultural da população envolvida, utilizando controlos socialmente mais próximos, tais como vizinhos.

7.4.5 METODOLOGIAS A USAR EM ESTUDOS FUTUROS

Faz falta neste estudo a comparação da fertilidade destes doentes com a dos seus irmãos não-afectados que também tivessem completado o seu período reprodutor. Alguns autores têm apontado (no estudo de outras doenças) objecções em relação ao uso do grupo dos irmãos não-afectados como grupo de controlo[2-4], com base em dois argumentos fundamentais:

a) dado que se trata de doenças de início na vida adulta, haverá inevitavelmente uma inclusão de heterozigotos assintomáticos entre os irmãos não-afectados (sobretudo na ausência de testes para portadores);

b) os irmãos não-afectados não são representativos da população geral "normal", na medida em que tanto os indivíduos doentes como os não-portadores estão em risco durante a maior parte do seu período reprodutor, devido ao início tardio da doença; ou seja, a doença só se manifesta numa fase da vida em que o período reprodutor está praticamente terminado, tendendo por isso irmãos doentes e irmãos não-afectados a ter, em termos culturais, um comportamento reprodutor semelhante.

Uma metodologia possível e segura teria sido incluir apenas os irmãos testados e negativos, mas isso seria de pouca ajuda aqui, uma vez que o teste pré-sintomático só está disponível desde há 10 anos. Bastará referir que, do conjunto de doentes incluídos neste estudo, só um fez o teste antes do início dos sintomas, o que se deve fundamentalmente ao facto de este estudo (doentes com período reprodutor já completo) abranger vários doentes que já tinham morrido quando o teste ficou disponível ou então doentes vivos em 1991 mas já mais velhos (e que certamente não tinham feito o teste antes do início da doença).

Contudo, o motivo fundamental pelo qual não foi possível incluir neste estudo este tipo de comparação não é nenhuma razão metodológica de fundo mas sim um obstáculo prático intransponível nesta fase: é que, se para os doentes já houve algumas dificuldades em estabelecer o número total de filhos, este tipo de informação é muito mais precária para os irmãos não-afectados. Estes, em muitos casos, só foram observados uma vez, por isso apenas sabemos que um dado indivíduo não estava afectado numa determinada data, o que não quer dizer que não tenha desenvolvido a doença depois, mas sobretudo quer dizer que poderá ter tido outros filhos depois dessa data. Até aqui o inquérito familiar foi sempre centrado nos indivíduos doentes. Por isso, um estudo deste género requererá de futuro um questionário construído especificamente com este objectivo. Uma vez que os irmãos que não são portadores do gene da PAF deverão ter uma sobrevida igual à da população normal, para muitas destas famílias deverá ainda ser (pelo menos teoricamente) possível entrevistar esses indivíduos, muitos dos quais será mais fácil hoje classificar (ou não) como não-afectados ou mesmo comprovar que não são portadores do gene.

A serem ultrapassados estes obstáculos de informação, é óbvia a vantagem de utilizar este grupo como grupo de controlo: a sua proximidade geracional com o grupo de doentes poderá solucionar a dificuldade em encontrar um grupo de controlo adequado que advém da variação no tempo das taxas de mortalidade e fertilidade das populações. Além disso, do ponto de vista cultural e social, estarão provavelmente mais próximos dos doentes do que a população "geral" das áreas de residência. Por isso, o uso de um grupo de controlo deste tipo permitiria pelo menos esclarecer se estes doentes têm uma fertilidade particularmente elevada ou se pertencem a uma população em expansão.

Não cheguei a estudar os dados referentes aos doentes do sexo masculino vivos em 1991, dado que não são directamente comparáveis à população geral, uma vez que os dados do Censo referem apenas a fertilidade das mulheres. Mas seria teoricamente possível ter feito essa comparação, pelo menos em relação aos doentes casados, através dos dados relativos às suas mulheres (idade e número de filhos nascidos desse casamento). Contudo, como já foi dito a propósito dos irmãos não-afectados, a informação sobre o ramo não-portador das famílias é muito precária, fazendo com que raramente se conhecesse a data de nascimento dos cônjuges dos doentes. Também um estudo deste tipo, no futuro, exigirá um questionário apropriado.

Uma questão final é que foi estudada a *fitness* dos doentes; contudo, em termos evolutivos, é a *fitness* dos heterozigotos (manifestantes ou não) que nos interessaria estudar. Neste contexto, seria interessante estudar a fertilidade dos portadores obrigatórios que morreram assintomáticos já depois de terem completado o período reprodutor (no qual não houve interferência da doença) e procurar compará-los com grupos de controlo, por exemplo, os irmãos não-portadores.

Uma outra possibilidade de estudo futuro seria a de uma outra população, a da área de Skellefteå, no norte da Suécia, em que, como vimos (Capítulo 4), a prevalência da PAF é também muito elevada. A existência de um registo computadorizado da população dessa área, já descrito no Capítulo 2, abre possibilidades de uso de grupos de controlo e mesmo de estudo da fertilidade ao longo do tempo, comparando antepassados de doentes com

indivíduos da mesma geração mas não relacionados com as famílias com PAF. Esta possibilidade não foi explorada no âmbito deste estudo devido à informação deficiente existente sobre os doentes, e exigirá um projecto com esse fim específico.

7.5 BIBLIOGRAFIA

1 Becker PE, Antunes L, Ribeiro do Rosário M, Barros F. Paramyloidose der peripheren Nerven in Portugal. *Z menschl Vererb -u Konstit -Lehre* 1964;**37**:329-364.

2 Reed TE, Neel JV. A Genetic Study of Mutiple Polyposis of Colon (With an Appendix Deriving a Method of Estimatig Relative Fitness). *Am J Hum Genet* 1955;7:236-263.

3 Reed TE, Neel JV. Huntington's Chorea in Michigan: 2. Selection and Mutation. *Am J Hum Genet* 1959;**11**:107-155.

4 Krooth RS. The use of the Fertilities of affected Individuals and their Unaffected Sibs in the Estimation of Fitness. *Am J Hum Genet* 1955;7:325-361.

CONCLUSÕES

A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA PAF EM PORTUGAL

1. A Póvoa do Varzim é o principal concelho de origem (cerca de 1/3 do total de doentes) e representa a maior concentração de famílias de PAF conhecida em todo o mundo.

2. A grande prevalência da doença (151 x 10-5) e a elevada frequência de portadores do gene mutante (186 x 10^{-5}) fazem com que, na região da Póvoa do Varzim/Vila do Conde, a PAF represente um problema de saúde pública.

3. O aumento das taxas de prevalência observado nos últimos anos (1981-1991) deve-se a uma melhor detecção de doentes, mas sobretudo ao facto da doença se encontrar em expansão naquela população.

4. Nesta região foi encontrada uma grande homogeneidade de idade de início (média 31 anos, mais precoce que na amostra global). O paradigma inicial, que caracterizava a PAF como uma doença iniciando-se tipicamente entre os 25 e os 35 anos de idade, continua a ser válido aqui.

A DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA PAF NO NORTE DA SUÉCIA

1. Na Suécia, a PAF distribui-se sobretudo nos dois distritos mais a norte, Västerbotten e Norrbotten: uma concentração de doentes já conhecida à volta da cidade de Skellefteå, e uma outra, só recentemente descoberta, mas não menos importante, em volta da cidade de Piteå.

2. Também em Skellefteå e Piteå, foram encontrados valores muito elevados para a prevalência da doença (91 x 10^{-5} e 63 x 10^{-5} respectivamente) para a frequência de portadores do gene (204 x 10^{-5} e 284 x 10^{-5} respectivamente).

3. A média da idade de início é 55.6 anos na região de Skellefteå e 61.9 anos em Piteå.

4. Por isso, apesar da frequência do gene superior na região de Piteå, a prevalência é mais elevada em Skellefteå.

DIFERENÇAS DE IDADE DE INÍCIO

I. Entre famílias

1. Têm-se vindo a detectar em Portugal alguns doentes que (tal como a maioria na Suécia) parecem mais protegidos do efeito de gene. Essa protecção expressa-se por um início mais tardio (que pode ir até aos 78 anos), por formas de apresentação mais benignas ou pela não-manifestação clínica do gene.

2. Esses casos tardios (início ≥ 50 anos) e os portadores assintomáticos de idade avançada tendem a agregar-se em famílias.

3. Nessas famílias, registam-se por vezes idades de morte muito tardias, tanto no ramo afectado como nos não-portadores, o que sugere que genes relacionados com a longevidade podem interactuar com o gene da PAF, retardando o aparecimento dos sintomas.

II. Entre os sexos

1. Tanto em Portugal como na Suécia há mais homens que mulheres entre os doentes com PAF.

2. Nos doentes portugueses, contudo, há mais doentes que herdaram a doença da mãe que do pai.

3. Nos doentes portugueses, a média de idade de início é mais baixa nos homens (31.9) que nas mulheres doentes (35.6 anos). Nos doentes suecos a diferença de idade de início entre os sexos não é significativa.

III. Efeito do sexo do progenitor transmissor

1. A idade de início é mais precoce quando a doença é herdada da mãe do que quando é herdada do pai, tanto nos doentes portugueses como nos suecos.

2. Nos doentes suecos, a distribuição da idade de início nos doentes que herdaram a doença da mãe é bimodal: o facto de um doente ter um mãe afectada traduz-se num início, em média, 25 anos mais precoce do que se a mãe é transmissora mas nunca manifestou sintomas. Se a doença tiver sido herdada do pai, é quase indiferente se este foi ou não afectado.

3. Na idade de início dos doentes portugueses, verificou-se um efeito aditivo, sem interacção, entre o sexo do progenitor e o sexo do próprio doente: os filhos de mãe afectada são os mais precocemente atingidos (28.5) e, no outro extremo, mais protegidas, estão as filhas de pai afectado (34.1 anos).

4. Estes resultados parecem compatíveis com uma hereditariedade multifactorial de modificadores genéticos, com um limiar mais elevado para as mulheres. Estas, mais protegidas, precisariam de mais factores adversos para adoecerem e iniciariam a doença mais tarde. Os seus filhos receberiam mais genes adversos e teriam assim um risco maior de adoecerem mais cedo e mais vezes, especialmente se fossem homens (com limiar mais baixo). Pelo contrário, as filhas de pais afectados estariam mais protegidas, uma vez que precisariam de mais factores para adoecerem e os seus pais têm menos desses factores devido ao seu limiar mais baixo para a doença.

A VARIABILIDADE DA IDADE DE INÍCIO ENTRE GERAÇÕES: A ANTECIPAÇÃO

1. Em algumas famílias, o gene pode atravessar uma ou mais gerações sem se manifestar. Vários doentes tiveram um progenitor que era afinal portador assintomático da mutação, que pode não chegar a exprimir sintomas durante toda a vida, mesmo em idades avançadas.

2. A idade de início é, na maioria dos casos, mais precoce na 2ª geração, sendo a antecipação média 6.6 anos.

3. A antecipação varia segundo o sexo do próprio doente e o do progenitor afectado (efeito aditivo): os filhos de mães afectadas têm, em média, um início 12 anos mais cedo que a sua mãe; as filhas de pais afectados têm uma idade de início ligeiramente mais tardia que estes.

4. Em famílias com três gerações de doentes observa-se geralmente um efeito cumulativo de antecipação. As excepções são sobretudo filhas de homens afectados, que anulam assim a antecipação verificada na geração anterior.

5. A antecipação não é o resultado de enviesamentos produzidos pelo início mais ou menos simultâneo nos pais e nos filhos.

6. A antecipação não resulta de um efeito de regressão para a média: há antecipação positiva mesmo nos pares em que o início no progenitor era inferior à média.

7. Os progenitores dos casos tardios, ou tinham tido eles próprios um início tardio, ou tinham morrido em idades relativamente avançadas sem manifestação de sintomas.

8. Não foi encontrado nenhum caso tardio cujo progenitor tivesse tido um início clássico, ou seja, até agora os pares complementares postulados por Penrose nunca foram encontrados.

UM MODELO GENÉTICO PARA A VARIABILIDADE DA IDADE DE INÍCIO NA PAF

1. Tanto em Portugal como na Suécia, a correlação da idade de início entre irmãos é mais elevada que a correlação entre pais e filhos, (que, por sua vez, não era significativamente diferente de 0.5).

2. Foram por vezes observadas diferenças de idade de início de 30 anos em algumas fratrias completas e entre meios-irmãos.

3. Os valores elevados das correlações de idade de início entre parentes reforçam a hipótese de que modificadores genéticos possam modular a idade de início na PAF.

4. Os seis doentes homozigotos encontrados na Suécia, com fenótipo idêntico ao dos heterozigotos, excluem o efeito dos isoalelos.

5. Parece mais provável que um modificador genético se situe fora do locus da doença: o facto de nunca se ter encontrado um doente tardio com um progenitor clássico sugere um locus ligado, próximo do locus da TTR, ou um modificador do tipo das mutações dinâmicas.

A FERTILIDADE E A FITNESS: UMA VANTAGEM SELECTIVA?

1. O número médio de filhos é superior nas mulheres doentes e o período reprodutor mais curto nos homens.

2. A doença surge quando os doentes já têm cerca de 86% do total dos seus filhos.

3. Porém, nos homens doentes o fim do período reprodutor é próximo da idade média de início, provavelmente devido ao aparecimento de impotência.

4. O aparecimento da doença nas mulheres não interfere com a sua capacidade reprodutora: o início da doença nas mulheres faz-se, em média, 3 anos após o nascimento do último filho.

5. Estes resultados explicam que haja mais doentes que herdaram a doença da mãe que do pai.

6. O número médio de filhos das mulheres doentes é ligeiramente superior ao das mulheres da população geral.

7. Pelo menos na Póvoa/Vila do Conde (única região que foi estudada nesse sentido) a doença encontra-se em expansão: cada doente originou, em média, 1.6 novos portadores.

ANEXO

QUESTIONÁRIO ENVIADO AOS DOENTES SUECOS

Förfrågan om familjeuppgifter i familjer med familjär amyloidos.

FAMY-medlem

Namn:

Födelsedatum:

Första tecken på sjukdomen: När? Hur?

Tidpunkten för diagnos? År Vilket sjukhus?

Mina föräldrar

Fars namn.....
födelsedatum.....
Födelseförsamling

Hade sjukdomen ? ja Nej

debutålder Första symptom. År?

Diagnos År?

Avliden? När?

Angiven dödsorsak?

Mors namn.....
födelsedatum.....
Födelseförsamling

Hade sjukdomen ? ja Nej

debutålder Första symptom. År?

Diagnos. År?

Avliden? När?

Angiven dödsorsak?

Mina föräldrars syskon

Ange nedan antal samt kön samt om de hade sjukdomen eller inte och det år som de avled.

Mors sida

namn	födelseår	sjuk?	hur länge?	dödsår?

Fars sida

namn	födelseår	sjuk?	hur länge?	dödsår?

Mina syskon

namn	födelseår	sjuk?	hur länge?	dödsår?

Mina barn

namn	födelseår	sjuk?	hur länge?	dödsår?