

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Polineuropatia amiloidótica familiar: uma revisão bibliográfica

JOÃO RUI OLIVEIRA SEIXAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM **MEDICINA**

2016

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Polineuropatia amiloidótica familiar: uma revisão bibliográfica

ORIENTADOR – PROFESSOR DOUTOR MANUEL MELO PIRES

CATEGORIA – PROFESSOR ASSOCIADO

AFILIAÇÃO – INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR

Agradecimentos

Cumprir-me, antes de mais, manifestar a minha gratidão às pessoas e entidades que passo a referir:

Ao Prof. Doutor Melo Pires, por ter aceite o desafio de orientar este trabalho, com disponibilidade, preocupação, exigência, paciência e sentido de humor.

À Unidade de Neuropatologia do Centro Hospitalar do Porto, pela disponibilização de imagens de cortes histológicos para o trabalho.

À Doutora Carolina Lemos, pelo convite para a reunião 4Ward.

À Doutora Teresa Coelho, pelo apoio na elaboração da tese.

À Ana, pelo apoio e contactos na elaboração do trabalho.

A todos os meus amigos, pelo carinho, apoio e paciência.

Ao ICBAS, por tudo o que aprendi nesta casa.

À minha família, pelo amor presente, apesar da distância.

0.1 Abstract

Familial amyloid polyneuropathy is a sensory, motor and autonomic polyneuropathy with systemic involvement. The disease course is progressive and has a fatal outcome 10 years after onset if no treatment is provided.

The condition is inherited in an autosomal dominant way, and has incomplete penetrance. The major endemic foci are located in Portugal, Brazil, Japan and Sweden. Clinical features vary with the age of onset, implicated mutation and the occurrence as a sporadic or familial case. Some patients have cardiomyopathy as a major manifestation.

Familial amyloid polyneuropathy occurs in patients carrying a mutant transthyretin allele. The translated protein is prone to dissociation and precipitation as amyloid in the connective tissue.

Strategies for stabilization or suppression of transthyretin have been designed. Nevertheless, the knowledge of the pathophysiology is incomplete, as shown by several features yet to be understood, like the findings of amyloid deposits formed by wild-type transthyretin, the variety of clinical phenotypes for a given genotype, and the existence of genetic anticipation.

More than 20 years after the advent of liver transplant for the treatment of the disorder, its long-term benefits are compelling, as demonstrated by subsets of patients with 100% 10-year survival and no progression of the polyneuropathy. Therefore, a new profile of patients has appeared, whose long-standing disease may increase the prevalence of cardiac, central nervous system and eye manifestations. In addition, it has been shown that the transplant is not equally effective in every patient, with higher mortality rates in late-onset or advanced progression disease.

These challenges have stimulated the development of drugs that slow down or stop the progression of the disease. Tafamidis is already in clinical use with positive effects, although still under long-term evaluation. Diflunisal, doxycycline with tauroursodeoxycholic acid and gene silencing therapies are potential treatments in the near future.

Much of the existing knowledge about the disease has been built upon the works of Corino de Andrade, who described the disease in 1952 (1). This review aims to address the state of the art in familial amyloid polyneuropathy, focusing on epidemiology, genetics, pathology, the variety of clinical manifestations, as well as diagnosis, evaluation and treatment of the disorder.

0.2 Keywords

Amyloid

Clinical features

Familial amyloid polyneuropathy

Liver transplant

Tafamidis

Transthyretin

0.3 Resumo

A polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) é uma polineuropatia sensitiva, motora e autonómica, com envolvimento sistémico. O seu curso é progressivo sendo, em média, fatal ao fim de 10 anos de evolução, se nenhum tratamento for instituído.

É uma doença autossómica dominante de penetrância incompleta, com focos endémicos em Portugal, no Brasil, no Japão e na Suécia. As manifestações clínicas variam em função da idade de apresentação, mutação envolvida e de se tratarem de casos esporádicos ou familiares. Em algumas situações, a cardiomiopatia é uma característica marcante da doença.

A PAF ocorre em portadores de mutações na transtirretina (TTR) que produzem uma forma de proteína mais tendente à dissociação e precipitação como amiloide no tecido conjuntivo. O conhecimento adquirido que temos da fisiopatologia já permite o desenho de estratégias para a estabilização ou supressão da TTR, mas parte do que se encontra descrito na literatura ainda requerem enquadramento fisiopatológico, como o papel da amiloide formada por TTR não mutada, a explicação da variedade de fenótipos clínicos para um mesmo genótipo ou qual a explicação para o fenómeno de antecipação genética.

Mais de 20 anos de experiência no recurso à transplantação hepática como tratamento da PAF, mostram que os benefícios deste tratamento são evidentes, com alguns subgrupos de doentes a apresentarem 100% de sobrevida a 10 anos, sem progressão da polineuropatia. Surge assim um novo perfil de doentes, cujo maior tempo de evolução de doença poderá aumentar a prevalência de manifestações cardíacas, do sistema nervoso central e oftalmológicas. Porém, o transplante não é igualmente eficaz em todos os doentes, com maior mortalidade em formas de apresentação tardia ou em fases avançadas de progressão.

A persistência de desafios quanto ao tratamento tem estimulado o desenvolvimento de fármacos que visam atrasar ou parar a progressão da doença. O tafamidis, já em uso clínico, tem tido efeitos positivos e continua em avaliação. O diflunisal, a doxiciclina combinada com o ácido tauroursodesoxicólico e as terapêuticas de silenciamento génico apresentam-se como possíveis terapêuticas no futuro próximo.

Muito do que se sabe atualmente sobre a doença foi construído sobre o trabalho de Corino de Andrade, que a descreveu em 1952 (1). Este artigo de revisão pretende abordar o estado da arte em PAF, focando-se na epidemiologia, genética, alterações patológicas, diversidade de apresentações clínicas, bem como diagnóstico, abordagem e tratamento da PAF.

0.4 Palavras-chave

Amiloide

Manifestações clínicas

Polineuropatia amiloidótica familiar

Tafamidis

Transplante hepático

Trantirretina

0.5 Abreviaturas

AINE: anti-inflamatório não esteroide

ASS: amiloidose senil sistémica

BNP: *brain natriuretic peptide*

CAF: cardiomiopatia amiloidótica familiar

DPD: ácido 3,3-difosfono-1,2-propanodicarboxílico

ECR: ensaio clínico randomizado

FAPWTR: *Familial Amyloidosis Polyneuropathy World Transplant Registry*

ITU: infeção do trato urinário

LCR: líquido cefalorraquidiano

mBMI: *modified body mass index*

MIBG: metaiodobenzilguanidina

mNIS+7: *Modified Neuropathy Impairment Score + 7 tests*

NIS: *Neuropathy Impairment Score*

NT-proBNP: *N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide*

PAF: polineuropatia amiloidótica familiar

PND: *modified polyneuropathy disability score*

RAGE: *receptor for advanced glycation end products*

RNAi: RNA interferente

SNC: sistema nervoso central

THAOS: *Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey*

TTR: transtirretina

UNP-CHP: Unidade de Neuropatologia do Centro Hospitalar do Porto

wt-TTR: transtirretina *wild-type* ou não mutada

Índice

0.1 Abstract	vii
0.2 Keywords.....	viii
0.3 Resumo	ix
0.4 Palavras-chave.....	x
0.5 Abreviaturas	xi
Índice	xii
Índice de figuras	xiv
1. Introdução	1
2. Epidemiologia.....	2
3. Considerações genéticas	3
4. Fisiopatologia	4
5. Alterações patológicas	6
6. Características clínicas	10
6.1 Idade de apresentação e diferenças clínicas	10
6.2 Polineuropatia.....	11
6.3 Outras manifestações neurológicas periféricas.....	12
6.4 Manifestações no sistema nervoso central	12
6.5 Manifestações oftalmológicas	13
6.6 Manifestações cardiovasculares	13
6.7 Manifestações renais.....	14
6.8 Manifestações genito-urinárias.....	14
6.9 Manifestações gastrointestinais	14
7. Diagnóstico.....	15
8. Abordagem clínica.....	16
9. Tratamento	18
9.1 Tratamento sintomático	18
9.2 Transplante hepático	19
9.3 Tafamidis	20
9.4 Ensaios clínicos.....	22

9.4.1 Diflunisal	22
9.4.2 Doxiciclina e ácido tauroursodesoxicólico	22
9.4.3 Partisiran	22
9.4.4 ISIS-TTR _{Rx}	23
10. Conclusão	24
11. Bibliografia.....	25

Índice de figuras

Figura 1. Corte transversal de nervo sural (hematoxilina-eosina 20x). Depósitos de substância amiloide (setas) e ausência de fibras mielinizadas. Cortesia da Unidade de Neuropatologia do Centro Hospitalar do Porto (UNP-CHP).....	8
Figura 2. Corte longitudinal de nervo sural (hematoxilina-eosina 20x). Depósitos de substância amiloide (setas). Cortesia da UNP-CHP.	8
Figura 3. Nervo sural, corte semifino (azul de toluidina 20x). Quase ausência de fibras mielinizadas (setas pretas) e depósitos de substância amiloide (seta vermelha). Cortesia da UNP-CHP.	9
Figura 4. Corte transversal de nervo sural (imunocitoquímica para transtirretina 20x). Depósitos de substância amiloide contendo transtirretina (setas pretas). Cortesia da UNP-CH.	9

1. Introdução

A polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) é uma doença de distribuição mundial, e de transmissão autossômica dominante, que cursa com acumulação sistêmica de amiloide.

Corino de Andrade (1) descreveu pormenorizadamente a PAF como uma doença com início na terceira ou quarta década da vida do doente. Inicia-se com parestesias dos membros inferiores, ocorrendo uma deterioração progressiva da marcha, disfunção erétil, incontinência urinária e envolvimento gastrointestinal, com morte em 10 anos, se não for instituído tratamento.

Este quadro clínico não descreve a totalidade dos casos, que poderão ser muito heterogêneos na sintomatologia e idade de apresentação, conforme a mutação e local de ocorrência (2-7).

A amiloide é constituída pela deposição extracelular de uma proteína rica em cadeias β , o que também acontece em patologias mais frequentes como a doença de Alzheimer ou a amiloidose de cadeias leves (8). A proteína depositada na PAF é uma forma mutada da transtirretina (TTR), de que estão descritas mais de cem formas diferentes (9). A mutação mais frequente no mundo e em Portugal a causar um quadro de neuropatia é a Val30Met (4).

A transtirretina tem um papel central em três patologias que cursam com deposição de TTR na forma de amiloide: uma doença esporádica em que a transtirretina é exclusivamente *wild-type* (wt-TTR), a amiloidose senil sistêmica (ASS) e duas doenças familiares em que ocorre uma mutação do gene da TTR, a cardiomiopatia amiloidótica familiar (CAF) e a PAF (4, 10).

Alguns autores utilizam uma classificação da PAF em quatro tipos. As PAF tipo I (genótipo Val30Met) e tipo II (genótipo Thr49Ser) seriam causadas por TTR (11). Os restantes tipos seriam causadas por outras proteínas: a gelsolina no tipo III ou Iowa (12) e a alfa-lipoproteína no tipo IV ou finlandês (13). A utilização desta nomenclatura é hoje menos frequente, por não refletir a variedade de mutações identificadas.

O presente artigo tem como objeto a PAF, definida como doença causada pela deposição de TTR mutante que cursa com neuropatia e pode ou não cursar com cardiomiopatia. Esta definição exclui, portanto, a CAF e a ASS, bem como as amiloidoses periféricas por deposição de outras proteínas.

2. Epidemiologia

Depois da identificação da primeira zona de endemia na Póvoa de Varzim por Corino de Andrade em 1952 (1), outros grandes focos de doença foram identificados no Japão (14), na Suécia (2), no Brasil (15), nas ilhas Baleares (16) e no Chipre (17). Todos estes focos, na grande maioria dos casos, partilham a ocorrência da mutação Val30Met, embora também estejam descritas fratrias que apresentam outros genótipos.

Portugal destaca-se pelo elevado valor de prevalência de 1/1108 (dados de 1991) na zona de Vila do Conde e Póvoa de Varzim (18). Existem casos diagnosticados em todo o país, tendo as zonas da Serra da Estrela e da Figueira da Foz prevalência intermédia (18, 19).

Fora de Portugal, os estudos de epidemiologia genética na Suécia descrevem uma prevalência de 91 e 104/10.000 nos dois focos no norte do país, Skellefteå e Piteå, (20). No Japão, as regiões de Nagano, Kumamoto e Ishikawa têm uma prevalência que oscila entre 3,5-15,5/1.000.000 (14). Na ilha de Chipre, a prevalência é de 3,72/100.000 (17) e de 5/100.000 na ilha de Maiorca (16).

Quanto a outras mutações, a Val122Ile tem uma frequência de 2% nos afroamericanos nos EUA e manifesta-se frequentemente como CAF (21). Esta poderá ser a mais frequente mutação TTR no mundo.

Fora das zonas endémicas, os genótipos encontrados são mais variados e apresentam frequentemente cardiomiopatia. No Reino Unido a mutação mais frequente é Thr60Ala (6, 22). Apesar de na França e em Itália a mutação mais frequente ser a Val30Met, outras representam mais de 10% dos casos: a mutação Ser77Tyr em França (23) e as mutações Glu89Gln e Ile68Leu em Itália (24).

3. Considerações genéticas

A transtirretina é codificada por um gene situado no braço longo do cromossoma 18 (18q11.2-q12.1) (25). A PAF ocorre por transmissão familiar autossômica dominante de uma das mais de cem formas do gene da TTR que resultam de mutações pontuais, embora existam casos esporádicos ou de história familiar desconhecida (4, 9, 26). A penetrância é incompleta e existe antecipação entre gerações.

A maioria dos genótipos associa-se a uma grande variedade de fenótipos, não se conhecendo para tal uma explicação fisiopatológica (27). As particularidades mais significativas de alguns genótipos estão referidas no capítulo 6. É também de registar a existência de genótipos que não provocam doença (9).

Na PAF, a penetrância é frequentemente maior em famílias que apresentam início mais precoce. Em Portugal, a penetrância é de 87% aos 40 anos (18), valores semelhantes ao registado no Japão nos focos de início precoce (14).

Quanto às formas de início mais tardio, na Suécia a penetrância é de 5% aos 40 anos e 67% aos 90 anos (28). A penetrância também é baixa em casos fora das áreas endémicas com apresentação tardia no Japão (29). Uma exceção na relação entre idade de apresentação e penetrância é um dos focos de endemia no Japão, que tem início tardio mas apresenta alta penetrância (14). A penetrância varia ainda consoante o progenitor afetado, sendo superior se a transmissão for por via materna, o que se poderá dever a um polimorfismo mitocondrial (30, 31).

Foi recentemente confirmada a ocorrência de um fenómeno de antecipação, ou seja, a manifestação da doença mais precocemente em filhos de pais afetados (31), que já tinha sido sugerido por investigações anteriores (16, 18, 20, 32). A antecipação ocorre em doentes filhos de mãe afetada e pode ir até mais de 10 anos (31).

A homozigotia das mutações da TTR é viável. Estão descritos vários casos de homozigotos Val30Met com fenótipo variado, mas frequentemente de início tardio (33, 34). A homozigotia de outras mutações está também descrita (33, 35).

Heterozigóticos compostos Val30Met e Thr119Met também já foram registados, e têm um curso mais benigno que os heterozigóticos Val30Met (36).

Um estudo de *linkage* genético da mutação Val30Met mostrou que os *clusters* Português e Japonês partilham um ancestral comum (37). Através de um estudo de *decay of haplotype sharing*, Zaros datou o *cluster* sueco ao século XVII, o português ao século XIII e sugeriu que os casos analisados no Brasil tenham surgido por efeito fundador da mutação portuguesa (38). Estas mutações Val30Met de diferentes origens podem contribuir para compreender as semelhanças entre casos em Portugal, Brasil e Japão, quando comparados com os da Suécia.

4. Fisiopatologia

A transtirretina (TTR), previamente conhecida como pré-albumina, é uma proteína de transporte homotetramérica com dois locais para ligação à tiroxina e dois para a proteína de ligação ao retinol (39). Cada monómero é constituído por 8 cadeias β -pregueadas de 127 aminoácidos (39, 40). É uma proteína cuja estrutura é muito conservada evolutivamente (41).

No sangue, a TTR tem afinidade para circular num complexo com a proteína de ligação ao retinol e o retinol mas, uma vez que a maioria da tiroxina circula no sangue ligada à globulina de ligação à tiroxina, o sítio de ligação da TTR à tiroxina encontra-se frequentemente livre (42). Pelo contrário, no líquido cefalorraquidiano (LCR), a TTR é a mais importante proteína de transporte da tiroxina (42).

A maioria da produção de TTR ocorre no fígado, sendo também produzida nos plexos coróides e epitélio da retina (40). A proteína consegue atravessar a barreira hematoencefálica, mas provavelmente apenas de forma unidirecional do LCR para o sangue (43).

Para além da função de transporte, pensa-se que a TTR desempenha outras funções fisiológicas e patológicas (42), sendo uma proteína negativa de fase aguda (44).

No centro da patologia molecular da PAF está a tendência à dissociação das moléculas de TTR mutadas em monómeros não nativos, descrita em estudos *in vitro* (45). Estes monómeros têm baixa estabilidade e associam-se em oligómeros de tamanho crescente, que precipitam como fibrilhas de amiloide (46, 47).

O mecanismo que conduz à fisiopatologia da doença não está completamente esclarecido. Vários estudos indicam que existe citotoxicidade aguda dos monómeros e dos oligómeros de baixo peso molecular, que representam um estado intermédio entre a dissociação da TTR e a precipitação de amiloide e são referidos na literatura como agregados pré-fibrilares (47-50). Esta toxicidade pode começar antes da formação dos depósitos de amiloide, em doentes ainda assintomáticos (48). Foi sugerido que a toxicidade em células do sistema nervoso possa ser mediada por um recetor de membrana que ative as vias de apoptose, o *receptor for advanced glycation end products-dependent* (RAGE) (51).

Pelo contrário, um estudo com material de biópsia não detetou a ocorrência de citotoxicidade aguda perante exposição das células a moléculas resultantes da degradação de TTR (52). Foram detetadas alterações no citoplasma de cardiomiócitos que podem ser devidas a um efeito metabólico causado pelas limitações físicas provocadas pela deposição de amiloide (52).

Recentemente, foram descritas diferenças significativas na expressão génica no fígado de doentes Val30Met suecos, quando comparados com indivíduos normais (53). Alguns dos genes com expressão alterada relacionam-se com mecanismos pós-transcricionais de *folding* e controlo de qualidade do retículo endoplasmático, o que poderá conduzir à síntese de proteínas com menor estabilidade conformacional. Este achado poderá contribuir para perceber a deposição de wt-TTR em casos de FAP (54, 55).

Também foi sugerido que espécies oxidadas de TTR tenham maior tendência à dissociação, o que poderá ajudar a explicar as expressões tardias em alguns doentes (56). Outros autores apontam para a ocorrência de proteólise da TTR antes da deposição em algumas formas da doença, nomeadamente formas de início tardio e em mutações não Val30Met (57-59).

5. Alterações patológicas

A substância amiloide constitui um depósito proteico de fibrilhas insolúveis de 10nm de diâmetro, que apresenta birrefringência verde sob microscopia de polarização quando corado por vermelho do Congo (8). Quando isolado dos tecidos e analisado por difração de raios X, a amiloide apresenta um padrão em cruz- β , o que revela a sua estrutura β -pregueada (8).

Vários autores (52, 60-64) descreveram a deposição de amiloide na quase totalidade dos tecidos, incluindo rins, gânglios raquidianos, medula espinal, corpo vítreo, estômago, intestino delgado ou tiroide, através de técnicas histológicas ou de imuno-histoquímica. Essa deposição é descontínua e irregular, ocorrendo no tecido conjuntivo e na periferia de vasos sanguíneos.

Biópsias em portadores assintomáticos sugerem que a deposição de amiloide não é detetável na maioria destes doentes, podendo surgir apenas pouco tempo antes, ou mesmo após, as primeiras manifestações clínicas (65, 66).

No sentido de compreender a instalação da polineuropatia, vários autores estudaram amostras de nervo periférico, sendo o nervo sural frequentemente utilizado (5, 29, 60, 67). Quando presente, a deposição ocorre na periferia dos capilares endoneurais, associada à perda de densidade das fibras nervosas (figuras 1-4, páginas 9 e 10) (60, 67).

Na maioria dos casos relatados, as fibras inicialmente atingidas são as de pequeno calibre não mielinizadas, associadas às sensibilidades térmica e algica e, à medida que a doença progride, são afetadas as fibras mielinizadas de maior calibre (5, 60, 67). A densidade de fibras nervosas correlaciona-se com a progressão da doença (60, 67). A ausência virtual de fibras nervosas e a oclusão dos capilares são apenas registadas em amostras de doentes em estado avançado (67). Para o processo de lesão dos axónios pode contribuir a deposição proximal de amiloide nos gânglios raquidianos (5, 29, 60).

Em doentes de início mais tardio, foi descrito que as fibras mielinizadas são mais atingidas que as não mielinizadas e que ocorre menor atingimento ganglionar (29).

A participação das células de Schwann na patologia é controversa, com autores a reportarem achados contraditórios sobre a presença e importância da ocorrência de lesões neste tipo celular (5, 60, 68). O padrão distal e simétrico de atingimento das fibras ainda não está explicado (5).

No sistema nervoso central (SNC), a deposição começa pelas meninges e vasos meníngeos e progride para os vasos meningocorticais e parênquima, designando-se angiopatia cerebral amiloide (67, 69). Um estudo em doentes transplantados sugere que

a deposição de amiloide possa acontecer desde uma fase precoce da doença, continua após transplante, e pode ou não estar associada a manifestações clínicas (69).

Como já foi referido, os agregados são compostos não só por TTR mutada, mas também por wt-TTR (54). Isto acontece mais frequentemente no coração em doentes mais velhos do sexo masculino (55), mas não existe consenso sobre se o sexo e a idade influem na composição relativa de TTR mutada e *wild-type* nos depósitos sistémicos (54, 55). Após o transplante, os depósitos periféricos de amiloide tornam-se ricos em wt-TTR, assemelhando-se aos achados de ASS (64).

Em estudos de doentes suecos e japoneses, foram descritos dois tipos de deposição de amiloide (A e B) quanto à integridade da TTR (57, 58). Os depósitos do tipo A contêm moléculas de TTR intactas e fragmentos C-terminal de moléculas de TTR truncadas, e são menos congofílicos. Estes depósitos estão presentes em doentes Val30Met de início tardio com doença cardíaca, bem como na maioria das mutações não Val30Met estudadas. Os depósitos de tipo B contêm apenas TTR intacto, têm elevada congofilia e estão associados ao fenótipo Val30Met de início precoce e sem doença cardíaca.

Para além dos neurónios sensitivos dos gânglios raquidianos, a deposição de amiloide poderá afetar de forma direta outros tipos celulares, como as células endócrinas (70) e as células de Cajal (71) do estômago, que poderão estar diminuídas.

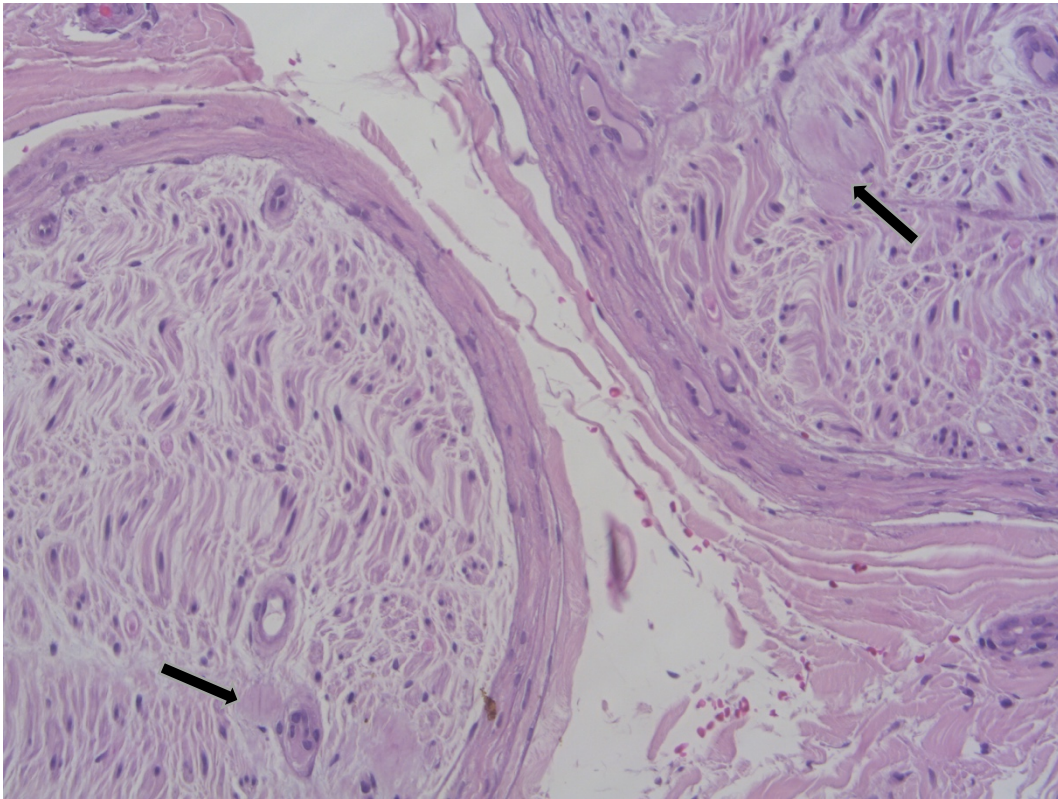


Figura 1. Corte transversal de nervo sural (hematoxilina-eosina 20x). Depósitos de substância amiloide (setas) e ausência de fibras mielinizadas. Cortesia da Unidade de Neuropatologia do Centro Hospitalar do Porto (UNP-CHP).

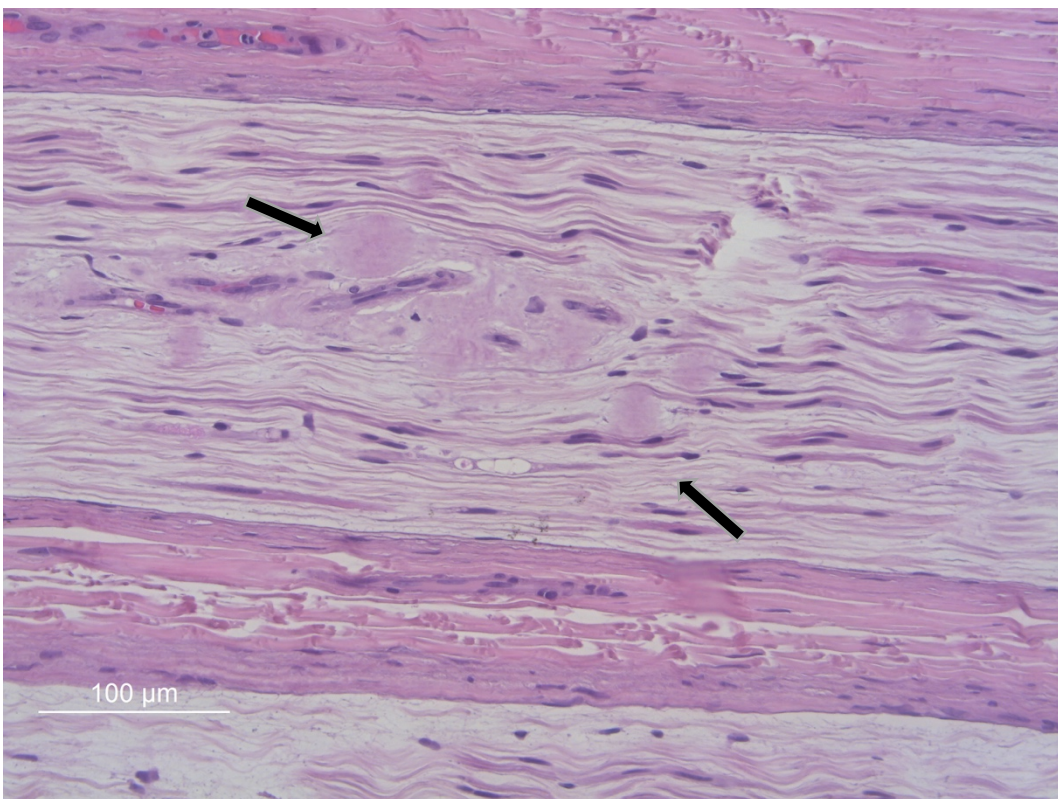


Figura 2. Corte longitudinal de nervo sural (hematoxilina-eosina 20x). Depósitos de substância amiloide (setas). Cortesia da UNP-CHP.

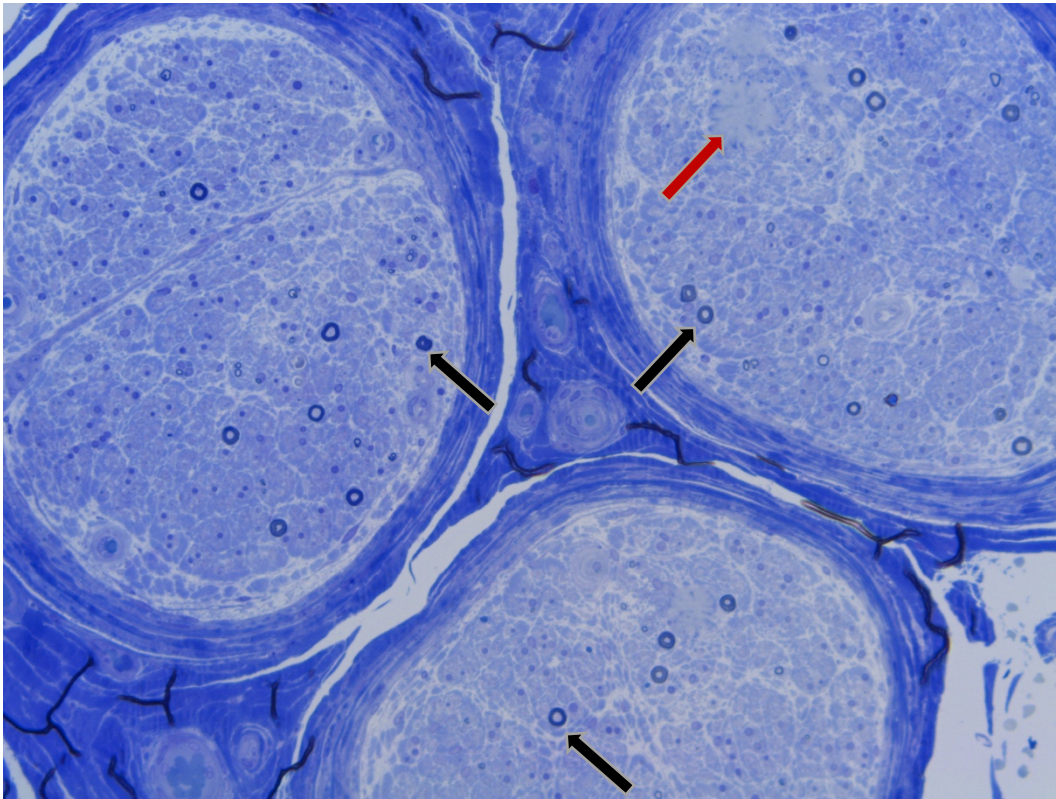


Figura 3. Nervo sural, corte semifino (azul de toluidina 20x). Quase ausência de fibras mielinizadas (setas pretas) e depósitos de substância amiloide (seta vermelha). Cortesia da UNP-CHP.

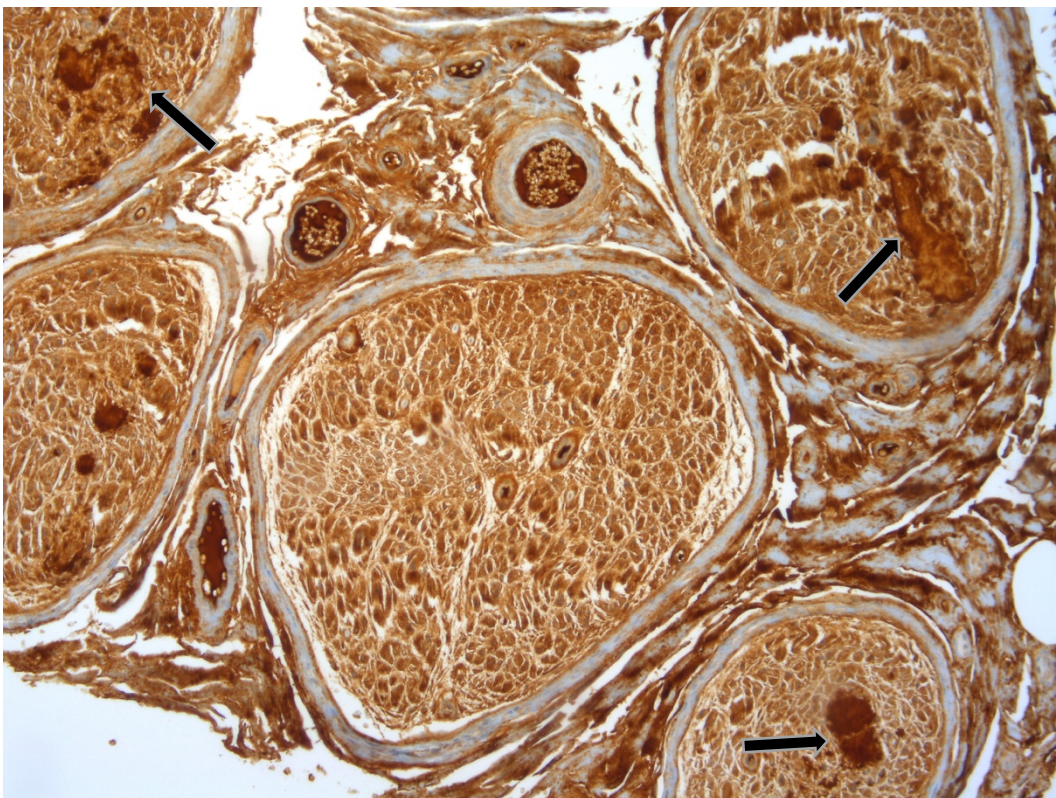


Figura 4. Corte transversal de nervo sural (imunocitoquímica para transtirretina 20x). Depósitos de substância amiloide contendo transtirretina (setas pretas). Cortesia da UNP-CH

6. Caraterísticas clínicas

Como já foi referido, a PAF não se esgota nas caraterísticas clínicas do tipo português, apresentando grande variedade quanto aos sistemas atingidos e curso clínico em função da mutação, idade de apresentação e localização geográfica.

Estudos realizados nos três países com zonas endémicas com casos de diferentes idades de apresentação e que não realizaram transplante hepático (2, 3, 18, 72), referem uma sobrevida média próxima dos 10 anos, oscilando entre 7.3 (casos japoneses não endémicos de início tardio) e 12 a 15 anos (casos japoneses endémicos de início precoce).

6.1 Idade de apresentação e diferenças clínicas

A primeira análise efetuada por Coelho (4) aos dados de 611 doentes com vários genótipos e origens geográficas, constantes da base de dados internacional *Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey* (THAOS), vem juntar-se às descrições prévias de um modo bimodal de incidência da doença. Se mais de 90% dos casos Val30Met apresentam polineuropatia sensitiva, os doentes de início precoce (definidos como de início antes dos 50 anos) apresentam mais frequente polineuropatia autonómica (59.9% versus 45.4%) e manifestações gastrointestinais (76.3% versus 66.0%). Já os doentes de início tardio manifestam mais carateristicamente neuropatia motora (56.7% versus 30.3%) e doença cardíaca (51,5% versus 28,8%).

Em Portugal, a clínica é dominada por polineuropatia periférica sensitiva, motora e autonómica (1). A idade de apresentação média é de 33.5 anos (17 a 78 anos, 87% dos casos abaixo dos 40 anos) e em 85% dos casos existe associação familiar (18). Em dois focos no Japão (72) e no Brasil (73), as idades de apresentação e caraterísticas clínicas são sobreponíveis às portuguesas.

No Japão foi identificado um terceiro foco de PAF, de menores dimensões, em 2008 (14). Os doentes apresentam início mais tardio (média de 62.9 anos), os sintomas autonómicos são mais moderados e a prevalência masculina é maior do que nos outros focos do país.

A idade média de início de 46 anos foi descrita nos *clusters* das ilhas Baleares (16) e Chipre (17). Esta idade é intermédia entre os tipos português e sueco e a clínica inicial é de neuropatia sensitiva e autonómica.

Na Suécia, a idade de apresentação é mais tardia, tendo sido calculada em 59 e 54 nos dois focos (20). É caraterística a presença precoce de sintomas de neuropatia sensitiva, gastrointestinais e cardiomiopatia (2, 74).

Embora a distribuição seja diferente entre as várias zonas de endemia, em todas está descrita uma grande amplitude de idades de apresentação (como já foi exemplificado para o caso Português). Essa variabilidade ocorre frequentemente dentro da mesma família (31).

Alguns estudos encontram uma associação entre casos de início mais tardio e a ausência de manifestações clínicas nos progenitores. A idade média de manifestação nestes casos de início tardio sem associação familiar foi de 45 anos em Portugal (75), 61 em França (62) e 64.5 no Japão (3).

Em Portugal, estes doentes têm uma clínica inaugural de neuropatia sensitivo-motora, menor envolvimento autonómico, e maior frequência de dor neuropática e de envolvimento de órgão (19, 75).

No Japão, os casos ocorridos fora das áreas endémicas mostram, também, diferentes manifestações (3). O início é tardio, através de neuropatia sensitivo-motora nos quatro membros, sintomas digestivos e hipotensão ortostática. Mais tarde, aparecem sintomas urinários e a morte advém de cardiomiopatia, aos 7 anos de doença.

6.2 Polineuropatia

A polineuropatia periférica e autonómica é uma característica clínica transversal a várias formas de mutação, sendo frequente na mutação Val30Met, Glu89Gln e, em menor medida, na Val122Ile (4). A neuropatia progride rapidamente nos primeiros 3 a 5 anos da doença e é um achado comum em várias regiões e idades de apresentação (76).

Andrade (1), corroborado por autores como Ikeda (72) e Dardiotis (17), relatou consistente e pormenorizadamente a progressão clínica típica da neuropatia sensitiva motora e autonómica, que se passa a descrever.

A neuropatia sensitiva instala-se distal e simetricamente nos dedos dos pés. Evidencia-se através de parestesias e dor neuropática em queimor agravada de noite ou com contacto com tecido e perda da sensibilidade térmica. Mais tarde, advém a perda das sensibilidades tácteis leve, profunda e das sensibilidades posturais. Estes sintomas vão progredindo no sentido proximal, para a perna, coxa e parte anterior do tronco, e atingem também os membros superiores no sentido proximal a partir dos dedos. Pode ocorrer hiperreflexia no início da doença, que rapidamente se converte em arreflexia com a progressão da patologia, podendo estar presentes articulações de Charcot.

Ainda segundo os mesmos autores, a neuropatia motora inicia-se com o quadro de défice motor dos membros de início distal e progressão proximal, traduzindo-se em desequilíbrio, quedas e dificultando a marcha. Em fases tardias da doença, existe atrofia muscular generalizada, conduzindo ao confinamento a uma cadeira de rodas ou ao leito.

A neuropatia também se instala nos membros superiores, levando, inicialmente, à perda da capacidade de preensão.

Ng Wing Tin estudou a apresentação da dor neuropática em doentes franceses (77), não conseguindo objetivar diferenças clínicas ou eletromiográficas entre doentes com e sem dor. Porém, detetou uma correlação entre a diminuição do número das fibras nervosas e a alteração do tipo de dor, que passa de uma dor em queimor provocada por estímulos mecânicos ou dinâmicos a uma dor paroxística em choque. Esta alteração poderá corresponder a um fenómeno de sensibilização central.

A polineuropatia autonómica causa manifestações clínicas nos sistemas génito-urinário, cardiovascular e gastrointestinal (ver abaixo). Andrade descreveu também anormalidades na produção de suor e alterações pupilares (1). Existe uma subpopulação de doentes italianos que apresentam manifestações autonómicas associadas a síndrome das pernas inquietas (78).

Está ainda descrita uma neuropatia atáxica com atingimento da sensibilidade vibratória e proprioceptiva, frequente na mutação Ser77Tyr (23).

6.3 Outras manifestações neurológicas periféricas

Num centro de tratamento italiano, uma síndrome do túnel cárpico bilateral ocorreu em 46 dos 131 doentes estudados (78). Em doentes com PAF, a ela é mais grave do que em doentes sem amiloidose, sendo que naqueles ocorre uma deterioração da condução do nervo mediano (79). Sendo um achado ocasional com o genótipo Val30Met, é uma patologia precoce e frequente no genótipo Thr60Ala (6).

Planté-Bordeneuve relatou a ocorrência de paralisia das cordas vocais e envolvimento dos pares cranianos, como forma de apresentação em alguns casos em França (62).

6.4 Manifestações no sistema nervoso central

O atingimento do sistema nervoso central (SNC) tem sido descrito para vários genótipos, como Leu12Pro, Asp18Gly ou Tyr69His, associado ou não a manifestações oftalmológicas e neuropáticas (9, 27). As manifestações referidas são diversas: acidente isquémico transitório, acidente vascular cerebral, convulsões, demência, encefalopatia, radiculopatia, surdez neurosensorial, casos letais de acidente vascular cerebral hemorrágico ou hemorragia subaracnoideia (80-82).

Embora o envolvimento do SNC na PAF por Val30Met seja considerado raro, Maia mostrou que 30% dos doentes Val30Met transplantados apresentavam episódios de disfunção do SNC, contra 5% dos controlos transplantados por outros motivos (69).

O atingimento do SNC é frequentemente referido como forma de apresentação leptomeníngea

6.5 Manifestações oftalmológicas

Beirão estudou os achados oftalmológicos em doentes portugueses com PAF Val30Met (83). Tais achados são comuns e aumentam de frequência com a evolução da doença. A manifestação mais precoce é o olho seco, seguida de deposição de amiloide na íris, cápsula anterior do cristalino e vítreo, aparecimento de irregularidades na íris, glaucoma e, finalmente, angiopatia amiloidótica da retina. Outra manifestação registada é o olho vermelho.

As opacidades do vítreo e o glaucoma podem evoluir para cegueira em alguns doentes (84).

6.6 Manifestações cardiovasculares

Na já referida análise aos doentes inscritos no THAOS, 42% dos doentes estudados mostraram manifestações cardíacas, registando-se ampla sobreposição de fenótipo neuropático e cardíaco (4).

O envolvimento cardíaco é mais frequente em homens com mais de 55 anos (10). Mesmo em doentes assintomáticos podem estar presentes alterações da condução, fibrilação ou flutter auricular, padrões *non dipper* e *reverse dipper* à monitorização circadiana da pressão arterial e aumento da espessura da parede posterior e septo interventricular (10, 85, 86).

Os doentes podem ser assintomáticos ou apresentar tonturas, síncope, hipotensão ortostática, insuficiência cardíaca que pode ser grave e cardiomiopatia restritiva com disfunção diastólica (10, 86, 87). A cardiomiopatia é a causa principal de morte em doentes de início tardio (3).

Rapezzi estudou a expressão da cardiomiopatia amiloidótica familiar em doentes italianos (24). Este autor defende que a apresentação dos fenótipos cardiomiopático e neuropático nas doenças causadas por TTR mutante ocorre segundo um espectro dependente do genótipo. Num extremo puramente neuropático ficaria a mutação Val30Met de tipo português e num extremo puramente cardiomiopático as mutações Val122Ile, Ile68Leu e Leu111Met. Na mutação Val122Ile a cardiomiopatia está presente na quase totalidade dos casos e a neuropatia sensitiva em aproximadamente um terço (4). A mutação Glu89Gln e a Val30Met de apresentação tardia seriam exemplo de formas em que quer as apresentações cardíacas, quer as neuropáticas são frequentes (24).

6.7 Manifestações renais

Embora pouco estudado, o envolvimento renal na PAF é amplamente conhecido, tendo já sido descrita nefropatia e morte por uremia (72). Vários estudos, realizados em doentes portugueses Val30Met, permitiram caracterizar esta faceta da patologia.

Quando presente, a doença renal terminal sobrevém 10 anos após o início dos sintomas, sendo mais comum em doentes de início tardio, originários de áreas não endémicas (88). A microalbuminúria é a primeira manifestação, podendo progredir para proteinúria, deterioração progressiva da função renal até insuficiência renal e finalmente doença renal terminal (89). Após o início da diálise, a sobrevida é de 21 meses (88).

Outro estudo mostra um baixo nível de eritropoietina em doentes portugueses Val30Met (90). Um quarto dos doentes apresentava anemia, ainda que esta não pudesse ser atribuída na totalidade à diminuição da eritropoietina (90).

6.8 Manifestações génito-urinárias

Como parte do padrão de neuropatia autonómica, alguns doentes desenvolvem bexiga neurogénica. Doentes com a mutação Val30Met apresentam frequentemente disúria e incontinência, com início dos sintomas nos primeiros 3 anos de doença em 50% dos casos (91, 92). Os sintomas são acompanhados de alterações no funcionamento do músculo detrusor e dos esfíncteres interno e externo (91, 92).

O surgimento de disfunção erétil é uma manifestação precoce da doença há muito reconhecida em doentes do sexo masculino (1, 68). Recentemente, foi descrita a ocorrência de disfunção sexual no sexo feminino, associada a diminuição da libido e disfunção do orgasmo (93).

6.9 Manifestações gastrointestinais

As manifestações gastrointestinais foram já descritas na PAF por Andrade (1), e estão enquadradas nas manifestações autonómicas. A análise de Wixner a 1579 casos com uma duração mediana de doença de 5 anos constantes no THAOS (74), concluiu que os sintomas gastrointestinais estão presentes em aproximadamente dois terços dos casos, especialmente em doentes com início precoce, mutação Val30Met sueca ou pós-transplante hepático. Os sintomas registados, por ordem de frequência, foram os seguintes: perda de peso não intencional, saciedade precoce, diarreia, obstipação e incontinência fecal.

7. Diagnóstico

Os principais desafios no diagnóstico de PAF surgem nas formas de apresentação menos típicas e em casos fora de áreas endémicas ou sem história familiar.

Para auxiliar os clínicos, foram recentemente publicadas *guidelines* internacionais (26) e um documento de consenso europeu (7) para a abordagem e tratamento da PAF. Os sinais que devem alertar os clínicos para a possibilidade da doença são os seguintes: a presença de uma polineuropatia progressiva sensitivo-motora, em combinação com história familiar de polineuropatia, bloqueios auriculoventriculares de origem desconhecida, sintomatologia gastrointestinal ou outras manifestações autonómicas (como bexiga neurogénica, hipotensão ortostática ou disfunção erétil), perda inexplicável de peso e síndrome do túnel cárpico bilateral (7, 26, 62, 94). O aumento do septo interventricular em doentes normotensos com mais de 55 anos deve fazer colocar a hipótese de amiloidose cardíaca (10).

Quando nenhum dos pais era afetado por PAF, a demora diagnóstica pode tardar até 4 anos (62, 75), sendo a PAF frequentemente confundida com a polineuropatia desmielinizante inflamatória crónica (5, 62, 95). De facto, ambas as doenças se caracterizam como neuropatia sensitiva e motora, aumento do teor em proteína do LCR e estudos de condução nervosa sugestivos de polineuropatia (5, 95).

A identificação de uma mutação é essencial para o diagnóstico, permitindo excluir diagnósticos diferenciais (26) e tornando possível a deteção de novas mutações através de sequenciamento genético do gene da TTR (7).

O diagnóstico histopatológico é importante para a verificação da entrada na fase ativa da doença, apesar da possibilidade de ocorrência de falsos negativos devido ao padrão irregular de deposição de amiloide (26). Vários tecidos são colhidos para detetar a doença, como gordura subcutânea abdominal, coração, nervo, pele, trato gastrointestinal e rim (4). Em Portugal, realizam-se frequentemente biópsias de glândula salivar labial para diagnóstico, com sensibilidade de 91%(66).

As técnicas de imuno-histoquímica podem identificar a presença de TTR nos depósitos de amiloide, mas não conseguem distinguir entre amiloidose senil e hereditária (26). Nesse caso, o teste genético pode fazer o diagnóstico diferencial (96).

Os clínicos devem estar alerta para a ocorrência de novas mutações em doentes com manifestações autonómicas inconsistentes (7).

8. Abordagem clínica

Depois de estabelecido o diagnóstico, é importante determinar o estágio da doença. Tal pode ser feito através da utilização de escalas, como a de estadiamento clínico de TTR-FAP, ou da *modified polyneuropathy disability score* (PND) (7).

Em paralelo, deve ser feita uma avaliação inicial e um *follow up* clínico e por técnicas complementares em neurologia, cardiologia, oftalmologia e nefrologia, com vista à iniciação do tratamento adequado.

A *Neuropathy Impairment Score* (NIS) e a mNIS+7 são algumas das escalas utilizadas para avaliação da neuropatia periférica. A NIS comporta apenas critérios clínicos (97). A mNIS+7 (*Modified Neuropathy Impairment Score + 7 tests*) foi concebida para a PAF e associa aos critérios clínicos da NIS critérios eletrofisiológicos, permitindo uma melhor avaliação topográfica e do envolvimento autonómico (97). Estas escalas foram validadas para a PAF numa coorte de doentes internacionais (76), com uma progressão de 17.8 pontos/ano para a mNIS+7 e de 14.4 pontos/ano para a NIS, de encontro ao que já tinha sido determinado anteriormente (98).

Estudos eletrofisiológicos permitem investigar a evolução da neuropatia. O padrão eletromiográfico típico tem uma redução difusa das amplitudes dos potenciais de ação sensitivos e potenciais de ação motores compostos que, no entanto, não deteta o atingimento precoce de pequenas fibras (78). A utilização de resposta cutânea simpática e potenciais evocados por laser corticais foi recentemente proposta mas, apesar de alta especificidade, estes métodos têm baixa sensibilidade para o diagnóstico (99). Promissor para a deteção precoce de envolvimento autonómico é o recurso ao Sudoscan, que revela alta sensibilidade e especificidade (100).

O diagnóstico de formas leptomeníngicas poderá ser sugerido pelo reforço das meninges e ocorrência de siderose em imagens de ressonância magnética e por grande aumento do teor de proteínas no LCR (82).

A maioria das manifestações cardíacas pode ser pesquisada pela realização de eletrocardiografia, ecocardiografia, Holter e monitorização em ambulatório da pressão arterial (86). A cintigrafia por ácido 3,3-difosfono-1,2-propanodicarboxílico (DPD) é um método muito sensível para a deteção de amiloidose cardíaca (101), portanto útil para a exclusão de doença em casos isolados. A cintigrafia por metaiodobenzilguanidina (MIBG), que avalia a inervação simpática no mediastino, pode ter um papel na determinação da sobrevida em doentes com cardiomiopatia (86).

Outros exames laboratoriais devem ser efetuados, incluindo exames laboratoriais para avaliação da doença cardíaca (BNP, NT-proBNP e troponinas séricas)

(26) e renal (clearance de creatinina e microalbuminúria) (26, 89). Existe uma correlação entre a presença de microalbuminúria e evolução para insuficiência renal (89).

Para uma avaliação mais correta da evolução do estado nutricional com correção da existência de hipoalbuminemia, pode ser determinado o produto entre o índice de massa corporal e a concentração de albumina sérica (mBMI) (102).

Em indivíduos assintomáticos que pertencem a famílias atingidas, foram propostas recomendações que focam a importância do teste genético e de uma avaliação clínica atempados, em função das manifestações locais da doença (103).

9. Tratamento

O tratamento da PAF tem dois grandes eixos, o tratamento sintomático e o tratamento modificador da doença.

As terapêuticas sintomáticas contribuem para aumentar a qualidade de vida e diminuir eventos adversos.

As terapêuticas modificadoras da doença, em uso clínico, são o transplante hepático e o tafamidis. O transplante hepático era até há pouco tempo o único tratamento disponível, existindo indicadores clínicos de melhor prognóstico que permitem uma seleção racional de recetores de fígado (104). O tafamidis é um fármaco recente que tem mostrado bons resultados e tem hoje uma utilização crescente em doentes em estádios precoces, podendo ser utilizado em alternativa ao transplante (7).

As terapêuticas modificadoras da doença que atualmente esperam aprovação ou estão em fase avançada de ensaios clínicos, incluem o diflunisal, a doxiciclina combinada com ácido tauroursodesoxicólico, o partisiran e os oligonucleótidos *antisense* ISIS-TT_{RX}.

9.1 Tratamento sintomático

Tratando-se de uma doença grave, com atingimento multi-sistémico, é grande a variedade de tratamentos de que os doentes poderão beneficiar. Porém, esses benefícios não estão ainda devidamente estudados, pelo que se mencionam tratamentos que foram alvo de pequenos estudos ou apenas referidos em *case reports*.

Doentes com cardiomiopatia poderão beneficiar de colocação de um pacemaker como tratamento de arritmias ou patologia da condução (87). Segundo um estudo francês, o pacemaker pode ser usado como profilaxia da ocorrência de eventos cardíacos em doentes que demonstrem alguma alteração da condução (105).

Na presença de doença renal terminal, a hemodiálise é o método substitutivo mais frequentemente utilizado e, geralmente, é iniciado aquando sobrecarga de volume e acidose metabólica (88).

A nível oftalmológico, os doentes podem beneficiar de ciclosporina tópica em casos refratários de olho seco, trabeculectomia no caso de glaucoma, ou vitrectomia parcial em casos de deposição de amiloide com comprometimento da visão (84). A terapia laser pode ser de interesse nos doentes com retinopatia amiloidótica (83).

No que toca à disfunção erétil, foi reportado um caso de tratamento bem-sucedido com sildenafil (106). Quanto à síndrome do túnel cárpico, estão descritos casos de resolução cirúrgica (107).

Nas *guidelines* internacionais, são sugeridas abordagens farmacológicas para o tratamento da hipotensão ortostática, anemia, sintomas gastrointestinais, dor neuropática e incontinência urinária (26).

9.2 Transplante hepático

Holmgren reportou a primeira transplantação hepática em doentes com PAF em 1993 (108). Uma vez que fígado é maior produtor de TTR do organismo (40), esta abordagem permite substituir a maioria da produção de TTR mutada por produção de wt-TTR.

As potencialidades desta abordagem são claras. Uma série de casos Val30Met seguidos no Japão reporta uma sobrevida a 10 anos de 100% em doentes transplantados contra 56% em doentes não transplantados (109). Um estudo de Ericzon, que reuniu 1940 casos de transplante registados na base internacional de dados online *Familial Amyloidosis Polyneuropathy World Transplant Registry* (FAPTR), obteve uma sobrevida de 53% a 20 anos, embora com diferenças muito significativas entre as várias mutações e apresentações (104).

No entanto, cedo se percebeu que nem todos os doentes beneficiam do transplante de forma idêntica. Em 2000, um estudo multicêntrico com 45 doentes, registava uma estabilização da progressão da perda de fibras nervosas e uma diminuição da progressão de sintomatologia após o transplante, mas estas eram menos evidentes em doentes transplantados já num estágio mais tardio (110). Mais tarde, reconheceu-se que a mortalidade é maior em doentes com pior estado nutricional e com doença de início tardio, especialmente se do sexo masculino (111).

O estudo de Ericzon vem confirmar estes achados, tendo identificado como fatores de bom prognóstico, um alto mBMI, início precoce da doença e pouco tempo decorrido entre o diagnóstico e o transplante (104). Para doentes Val30Met, a sobrevida a 10 anos de homens e mulheres foi de 78% e 75% em casos de início antes dos 50 anos e de 28% e 55% em homens e mulheres de início após os 50 anos (104). Em doentes de início precoce, houve um aumento de quase 20% da mortalidade por cada ano que passou entre o diagnóstico e o transplante (104). O intervalo entre diagnóstico e transplante é variável entre centros, sendo de 2,5 anos num centro japonês (entre 6 meses e 7 anos) (109).

Quanto às causas de morte, o estudo de Ericzon reporta septicemia (22%), patologia cardiovascular (22%), complicações hepáticas (14%) e mortes intraoperatórias (3%). A morte por complicações cardiovasculares em doentes com amiloidose por TTR é mais frequente do que em doentes transplantados por outras causas (104).

A progressão da cardiomiopatia não é frenada na maioria dos doentes, podendo mesmo surgir após o transplante. Ocorre um aumento da espessura do septo interventricular e da parede posterior em alguns doentes (112) e podem surgir arritmias mortais (113). Vários autores verificaram que em doentes PAF pós-transplante hepático, o padrão de deposição se aproxima da SAA, com maior teor em proteína *wild-type* (64, 114, 115). Esta relação poderá explicar a maior mortalidade pós-transplante, já referida, em homens de início tardio (104).

Quanto à patologia ocular, não se encontrou influência do transplante na progressão do atingimento ocular (116). No SNC, existe evidência de que a doença continua a progredir após transplante (69). Estas manifestações poderão estar associadas à continuação da produção de TTR mutada pelas meninges e retina (40).

Quanto à utilização do transplante em genótipos que não o Val30Met, Suhr estudou 264 pacientes do FAPWTR, com 57 diferentes mutações (117). A sobrevida a 10 anos foi pior nas mutações com manifestação leptomeníngea (exceto Tyr114Cys) e variou entre 21% para Ser50Arg e valores superiores a 70% para Val71Ala, Leu111Met e Leu58His. A patologia cardiovascular foi a causa de mortalidade em 38% dos doentes.

Um centro sul-africano realizou mais de 20 transplantes cardíacos em combinação com transplante hepático em casos de insuficiência cardíaca grave em doentes com cardiomiopatia restritiva (87). O transplante combinado em doentes com mutações Thr60Ala, Glu89Gln e principalmente Leu111Met é eficaz, havendo uma esperança de vida mediana de 7.8 anos em doentes de mutação não Val30Met após transplante cardíaco e hepático (117).

Num centro português que realiza transplantes combinados hepático e renal, não houve recorrência de nefropatia 86 meses pós transplante (118).

Com o intuito de ultrapassar a escassez de órgãos, alguns centros têm implantado os fígados de doentes com PAF em doentes com outra patologia, prática conhecida por transplantação dominó. Vários autores reportam a ocorrência de deposição de amiloide, alterações eletromiográficas ou sintomas de novo de neuropatia em alguns dos doentes durante os primeiros 10 anos de seguimento (119-121).

9.3 Tafamidis

O tafamidis (vyndaquel®) é uma molécula que se liga com grande afinidade e seletividade aos locais de ligação da tiroxina da TTR que, como já foi referido, se encontram tendencialmente livres no sangue (122). A molécula atua diminuindo a velocidade de dissociação da TTR mutada e *wild-type*, conseqüentemente diminuindo a amiloidogénese (122). A administração é oral.

Um ensaio clínico randomizado (ECR) de 2012 com 125 doentes Val30Met em estágio inicial publicado por Coelho mostrou uma tendência para a manutenção da qualidade de vida e não deterioração da função neurológica nos membros inferiores ao fim de 18 meses sob tratamento, embora sem significância estatística (123).

Porém, os objetivos secundários do estudo obtiveram essa significância estatística: a força muscular e função nervosa mostraram uma progressão significativamente mais lenta e o estado nutricional melhorou. O medicamento foi bem tolerado, tendo sido infecções do trato urinário (ITU) o único efeito adverso grave registado.

Perante os resultados animadores, o estudo prosseguiu até aos 30 meses, em que todos os participantes passaram a receber tafamidis (124). Neste período, a progressão da doença foi lenta, com o grupo que recebeu tafamidis no ECR a manter melhores resultados que o grupo que recebeu placebo. Os efeitos adversos incluíram ITU, cefaleia, vômitos e diarreia.

Um estudo com 37 doentes Val30Met em fase mais avançada (já com alterações da marcha), não sugeriu eficácia no tratamento com tafamidis na progressão da neuropatia ao fim de um ano (125). Os efeitos adversos foram sobreponíveis aos já referidos.

Foram também estudados os efeitos do tafamidis em 21 doentes com genótipo não Val30Met nem Val122Ile, com idades entre os 43 e os 76 anos (126). Este grupo mostrou alguma deterioração da função neurológica, mas estabilização da qualidade de vida, parâmetros cardíacos e estado nutricional.

O tafamidis foi aprovado pela Agência Europeia do Medicamento para o tratamento da PAF, constituindo uma possibilidade para doentes com PAF em fase inicial da doença. Porém, ainda não foi diretamente comparado com o transplante e a sua eficácia a longo prazo não é conhecida.

O documento europeu de consenso para o tratamento da doença indica que é o tratamento farmacológico de primeira linha em doentes em estado inicial, com sintomas leves e pouco tempo de evolução, devendo ter em atenção principalmente os efeitos adversos gastrointestinais (7).

A eficácia do tafamidis sobre a amiloidose senil sistémica já foi submetida a um estudo de fase 2, apontando os resultados para uma estabilização da insuficiência cardíaca na maioria dos doentes, e a ocorrência de eventos que mostravam progressão da doença cardiovascular em metade dos doentes ao fim de um ano (127).

9.4 Ensaios clínicos

9.4.1 Diflunisal

O diflunisal é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) já existente no mercado. Tal como o tafamidis, este fármaco liga-se à TTR e aumenta a sua estabilidade, diminuindo a amiloidogénese (128).

Foi realizado um ECR em 2013 com 130 doentes com várias mutações Val30Met (98). Ao fim de dois anos, o fármaco afetou significativamente a progressão da neuropatia e preservou a qualidade de vida dos doentes avaliados. O diflunisal foi interrompido em quatro casos devido à ocorrência de hemorragia gastrointestinal, insuficiência cardíaca congestiva, glaucoma e náusea. Para além dos resultados clínicos, o grupo de trabalho salienta o baixo custo do fármaco.

Foi estudado o efeito do diflunisal em 40 doentes japoneses de início tardio não candidatos a transplante (129). Aos 24 meses os doentes não tiveram progressão neurológica nem cardíaca, mas tiveram deterioração do mBMI. Três doentes abandonaram o estudo por insuficiência renal e trombocitopenia. Investigadores japoneses reportam a experiência do tratamento de 7 doentes de início tardio com diflunisal, em que obtiveram resultados clínicos sem uma tendência clara (130).

O papel do diflunisal na PAF não está bem definido, dependendo a sua aprovação clínica da monitorização de efeitos cardiovasculares e renais relacionados com a classe dos AINE, não tendo ainda sido aprovado na Europa (7, 26).

9.4.2 Doxíciclina e ácido tauroursodesoxicólico

Cardoso e Saraiva mostraram que a doxíciclina reabsorvia os depósitos de amiloide em modelos animais (131). Em 2010, descobriu-se que, em modelos animais, a doxíciclina tinha um efeito sinérgico nessa absorção com um ácido biliar, o ácido tauroursodesoxicólico (132).

Em 2012, foi realizado um estudo de fase 2 com 20 doentes em que 7 completaram um ano de tratamento com bons resultados na progressão da doença, com boa segurança farmacológica (133).

9.4.3 Partisiran

Foi desenhada uma pequena molécula de RNA interferente (RNAi) que se liga ao RNA mensageiro traduzido pelo gene TTR e impede a sua tradução, o que acontece independentemente da existência de mutação (134).

O partisiran é nome dado à molécula de RNAi associada a uma formulação lipídica, e mostrou uma redução de até 80% na concentração de TTR, entre mais de 80% (134).

O fármaco foi administrado num ECR de fase 2 em 27 doentes (135). Após 12 meses de uma administração a cada três semanas, o partisiran mostrava ser eficaz na paragem da progressão da neuropatia, avaliada pela escala NIS e mNIS+7, registando-se eritema e reação à infusão do fármaco como efeitos adversos. Está atualmente em curso um ECR de fase 3 (76).

Em modelos animais, verifica-se uma maior diminuição do tamanho e número dos depósitos de amiloide com a administração de partisiran do que com o tafamidis (136).

9.4.4 ISIS-TTR_{Rx}

O ISIS-TTR_{Rx} é um oligonucleótido *antisense* que se liga à porção não traduzida do RNA mensageiro da TTR, causando a sua destruição, e impedindo a tradução de TTR, seja mutada ou *wild-type* (137, 138). O ISIS-TTR_{Rx} mostrou uma diminuição em 80% da concentração de TTR em modelos animais (137, 138).

Atualmente, está a decorrer um ECR de fase 3 com 195 doentes com PAF (139).

10. Conclusão

Ao longo deste trabalho procurou-se caracterizar a polineuropatia amiloidótica familiar. Esta é uma doença grave que apresenta um envolvimento neurológico que é predominante, mas não exclusivo, salientando-se em vários doentes um grave atingimento cardíaco.

A PAF é uma doença genética rara, de que a maioria dos casos registados se encontram agregados em zonas endémicas. Nos últimos 10 anos, foram identificados novos focos no Japão e Chipre. Destacam-se os estudos efetuados fora das áreas endémicas e a confirmação da ocorrência de antecipação em filhos de mães afetadas.

Quanto à fisiopatologia, a ocorrência de uma mutação pontual no gene da transtirretina (as mais frequentemente são Val30Met e Val122Ile), causa a produção de uma proteína instável que se dissocia e deposita como substância amiloide. Existe controvérsia quanto a que outros mecanismos contribuem para a fisiopatologia, nomeadamente o papel dos depósitos da substância amiloide e da transtirretina não mutada. Muito se poderá avançar no futuro quanto à compreensão da doença, o que será necessário para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Mais de cem mutações da transtirretina estão identificadas, e a razão pela qual diferentes fenótipos podem resultar de um mesmo genótipo ainda não foi descoberta. Existe um grande espetro de apresentações que vai desde a ausência de doença a manifestações exclusivamente neurológicas ou exclusivamente cardíacas. Não se conhece a explicação para as diversas idades de apresentação.

O reconhecimento dos casos de ocorrência esporádica representa um desafio diagnóstico, dada a raridade da doença e a diversidade das suas formas de manifestação. A realização de testes genéticos é hoje uma ferramenta fundamental para o diagnóstico, e o aconselhamento genético fulcral para os doentes e familiares.

Os doentes beneficiam de um diagnóstico precoce para a instituição de tratamentos sintomáticos e modificadores da doença, que são mais eficazes em fases mais precoces. O transplante hepático é hoje frequentemente preterido em relação ao tafamidis, que apresenta menor morbi-mortalidade e bons resultados a curto e médio prazo. A longo prazo, é importante continuar a avaliar a eficácia do tafamidis.

Novas terapêuticas estão em fase de ensaios clínicos, com destaque para o diflunisal, que já mostrou que consegue atrasar o curso da doença, mas que aguarda clarificação quanto aos efeitos adversos, e as terapêuticas génicas. Estas novas abordagens constituem uma opção para doentes que não beneficiem do transplante ou do tafamidis que e queiram integrar ECR e podem, se se demonstrar a sua eficácia, aumentar a esperança e a qualidade de vida dos doentes com PAF.

11. Bibliografia

1. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy; familiar atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952;75(3):408-27.
2. Suhr OB, Svendsen IH, Andersson R, Danielsson A, Holmgren G, Ranlov PJ. Hereditary transthyretin amyloidosis from a Scandinavian perspective. *J Intern Med*. 2003;254(3):225-35.
3. Koike H, Tanaka F, Hashimoto R, Tomita M, Kawagashira Y, Iijima M, et al. Natural history of transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy: analysis of late-onset cases from non-endemic areas. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(2):152-8.
4. Coelho T, Maurer MS, Suhr OB. THAOS - The Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey: initial report on clinical manifestations in patients with hereditary and wild-type transthyretin amyloidosis. *Curr Med Res Opin*. 2013;29(1):63-76.
5. Pires MM, Taipa R, Guimaraes A. Familial Amyloid Polineuropathy. In: Vallat JM, Weis J, Gray F, Keohane K, Dyck PJ, editors. *Peripheral nerve disorders: pathology and genetics*. 1st Edition ed. Oxford: Wiley Blackwell; 2014. p. 131-7.
6. Carr AS, Pelayo-Negro AL, Evans MR, Laura M, Blake J, Stancanelli C, et al. A study of the neuropathy associated with transthyretin amyloidosis (ATTR) in the UK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87(6):620-7.
7. Adams D, Suhr OB, Hund E, Obici L, Tournev I, Campistol JM, et al. First European consensus for diagnosis, management, and treatment of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Curr Opin Neurol*. 2016;29 Suppl 1:S14-26.
8. Sipe JD, Benson MD, Buxbaum JN, Ikeda S, Merlini G, Saraiva MJ, et al. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid*. 2014;21(4):221-4.
9. Benson MD, Kincaid JC. The molecular biology and clinical features of amyloid neuropathy. *Muscle Nerve*. 2007;36(4):411-23.
10. Damy T, Maurer MS, Rapezzi C, Plante-Bordeneuve V, Karayal ON, Mundayat R, et al. Clinical, ECG and echocardiographic clues to the diagnosis of TTR-related cardiomyopathy. *Open Heart*. 2016;3(1):e000289.
11. Benson MD, Dwulet FE. Familial Amyloidotic Polyneuropathy Type I and Type II: Characterization of Two Distinct Genetic Defects and Identification of Carriers of Each Gene. In: Glenner GG, Osseman EF, Benditt EP, Calkins E, Cohen AS, Zucker-Franklin D, editors. *Amyloidosis*. Boston, MA: Springer US; 1986. p. 355-66.
12. Nichols WC, Gregg RE, Brewer HB, Jr., Benson MD. A mutation in apolipoprotein A-I in the Iowa type of familial amyloidotic polyneuropathy. *Genomics*. 1990;8(2):318-23.

13. Akiya S, Nishio Y, Ibi K, Uozumi H, Takahashi H, Hamada T, et al. Lattice corneal dystrophy type II associated with familial amyloid polyneuropathy type IV. *Ophthalmology*. 1996;103(7):1106-10.
14. Kato-Motozaki Y, Ono K, Shima K, Morinaga A, Machiya T, Nozaki I, et al. Epidemiology of familial amyloid polyneuropathy in Japan: Identification of a novel endemic focus. *J Neurol Sci*. 2008;270(1-2):133-40.
15. Bittencourt PL, Couto CA, Clemente C, Farias AQ, Palacios SA, Mies S, et al. Phenotypic expression of familial amyloid polyneuropathy in Brazil. *Eur J Neurol*. 2005;12(4):289-93.
16. Munar-Ques M, Saraiva MJ, Viader-Farre C, Zabay-Becerril JM, Mulet-Ferrer J. Genetic epidemiology of familial amyloid polyneuropathy in the Balearic Islands (Spain). *Amyloid*. 2005;12(1):54-61.
17. Dardiotis E, Koutsou P, Z. PE, Vonta I, Kladi A, Vassilopoulos D, et al. Epidemiological, clinical and genetic study of familial amyloidotic polyneuropathy in Cyprus. *Amyloid*. 2009;16(1):32-7.
18. Sousa A, Coelho T, Barros J, Sequeiros J. Genetic epidemiology of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)-type I in Povoia do Varzim and Vila do Conde (north of Portugal). *Am J Med Genet*. 1995;60(6):512-21.
19. Conceição I, De Carvalho M. Clinical variability in type I familial amyloid polyneuropathy (Val30Met): comparison between late- and early-onset cases in Portugal. *Muscle Nerve*. 2007;35(1):116-8.
20. 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(5):288-94.
21. Buxbaum J, Alexander A, Koziol J, Tagoe C, Fox E, Kitzman D. Significance of the Amyloidogenic Transthyretin Val 122 Ile allele in African-Americans in the Arteriosclerosis Risk in Communities (ARIC) and Cardiovascular Health (CHS) Studies. *Am Heart J*. 2010;159(5):864-70.
22. Sattianayagam PT, Hahn AF, Whelan CJ, Gibbs SD, Pinney JH, Stangou AJ, et al. Cardiac phenotype and clinical outcome of familial amyloid polyneuropathy associated with transthyretin alanine 60 variant. *Eur Heart J*. 2012;33(9):1120-7.
23. Adams D, Lozeron P, Theaudin M, Mincheva Z, Cauquil C, Adam C, et al. Regional difference and similarity of familial amyloidosis with polyneuropathy in France. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:61-4.
24. Rapezzi C, Quarta CC, Obici L, Perfetto F, Longhi S, Salvi F, et al. Disease profile and differential diagnosis of hereditary transthyretin-related amyloidosis with exclusively cardiac phenotype: an Italian perspective. *Eur Heart J*. 2013;34(7):520-8.

25. Wallace MR, Naylor SL, Kluge-Beckerman B, Long GL, McDonald L, Shows TB, et al. Localization of the human prealbumin gene to chromosome 18. *Biochem Biophys Res Commun.* 1985;129(3):753-8.
26. Ando Y, Coelho T, Berk JL, Cruz MW, Ericzon BG, Ikeda S, et al. Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:31.
27. Zeldenrust SR. Genotype--phenotype correlation in FAP. *Amyloid.* 2012;19 Suppl 1:22-4.
28. Hellman U, Alarcon F, Lundgren HE, Suhr O, Bonaiti-Pellié C, Planté-Bordeneuve V. Heterogeneity of penetrance in familial amyloid polyneuropathy, ATTR Val30Met, in the Swedish population. *Amyloid.* 2008;15(3):181-6.
29. Misu K, Hattori N, Nagamatsu M, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, et al. Late-onset familial amyloid polyneuropathy type I (transthyretin Met30-associated familial amyloid polyneuropathy) unrelated to endemic focus in Japan. Clinicopathological and genetic features. *Brain.* 1999;122 (Pt 10):1951-62.
30. Bonaiti B, Olsson M, Hellman U, Suhr O, Bonaiti-Pellie C, Plante-Bordeneuve V. TTR familial amyloid polyneuropathy: does a mitochondrial polymorphism entirely explain the parent-of-origin difference in penetrance? *Eur J Hum Genet.* 2010;18(8):948-52.
31. Lemos C, Coelho T, Alves-Ferreira M, Martins-da-Silva A, Sequeiros J, Mendonca D, et al. Overcoming artefact: anticipation in 284 Portuguese kindreds with familial amyloid polyneuropathy (FAP) ATTRV30M. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014;85(3):326-30.
32. Yamamoto K, Ikeda S, Hanyu N, Takeda S, Yanagisawa N. A pedigree analysis with minimised ascertainment bias shows anticipation in Met30-transthyretin related familial amyloid polyneuropathy. *J Med Genet.* 1998;35(1):23-30.
33. Tojo K, Sekijima Y, Machida K, Tsuchiya A, Yazaki M, Ikeda S. Amyloidogenic transthyretin Val30Met homozygote showing unusually early-onset familial amyloid polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 2008;37(6):796-803.
34. Kumabe Y, Miura A, Yamashita T, Oshima T, Misumi Y, Ueda M, et al. A homozygote case of familial amyloid polyneuropathy amyloidogenic transthyretin Val30Met in a non-endemic area. *Amyloid.* 2011;18 Suppl 1:169-70.
35. Jacob EK, Edwards WD, Zucker M, D'Cruz C, Seshan SV, Crow FW, et al. Homozygous transthyretin mutation in an African American Male. *J Mol Diagn.* 2007;9(1):127-31.
36. Coelho T, Chorão R, Sousa A, Alves I, Torres MF, Saraiva MJM. Compound heterozygotes of transthyretin Met30 and transthyretin Met119 are protected from the

devastating effects of familial amyloid polyneuropathy. *Neuromuscular Disorders*. 1996;6:S20.

37. Ohmori H, Ando Y, Makita Y, Onouchi Y, Nakajima T, Saraiva MJ, et al. Common origin of the Val30Met mutation responsible for the amyloidogenic transthyretin type of familial amyloidotic polyneuropathy. *Journal of Medical Genetics*. 2004;41(4):e51-e.

38. Zaros C, Genin E, Hellman U, Saporta MA, Languille L, Wadlington-Cruz M, et al. On the origin of the transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Ann Hum Genet*. 2008;72(Pt 4):478-84.

39. Newcomer ME, Jones TA, Aqvist J, Sundelin J, Eriksson U, Rask L, et al. The three-dimensional structure of retinol-binding protein. *Embo j*. 1984;3(7):1451-4.

40. Alshehri B, D'Souza DG, Lee JY, Petratos S, Richardson SJ. The diversity of mechanisms influenced by transthyretin in neurobiology: development, disease and endocrine disruption. *J Neuroendocrinol*. 2015;27(5):303-23.

41. Henneby SC. Evolutionary changes to transthyretin: structure and function of a transthyretin-like ancestral protein. *FEBS J*. 2009;276(19):5367-79.

42. Vieira M, Saraiva MJ. Transthyretin: a multifaceted protein. *Biomol Concepts*. 2014;5(1):45-54.

43. Alemi M, Gaiteiro C, Ribeiro CA, Santos LM, Gomes JR, Oliveira SM, et al. Transthyretin participates in beta-amyloid transport from the brain to the liver-involvement of the low-density lipoprotein receptor-related protein 1? *Sci Rep*. 2016;6:20164.

44. Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: a practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *J Clin Lab Anal*. 1999;13(6):273-9.

45. Quintas A, Vaz DC, Cardoso I, Saraiva MJ, Brito RM. Tetramer dissociation and monomer partial unfolding precedes protofibril formation in amyloidogenic transthyretin variants. *J Biol Chem*. 2001;276(29):27207-13.

46. Cardoso I, Goldsbury CS, Muller SA, Olivieri V, Wirtz S, Damas AM, et al. Transthyretin fibrillogenesis entails the assembly of monomers: a molecular model for in vitro assembled transthyretin amyloid-like fibrils. *J Mol Biol*. 2002;317(5):683-95.

47. Reixach N, Deechongkit S, Jiang X, Kelly JW, Buxbaum JN. Tissue damage in the amyloidoses: Transthyretin monomers and nonnative oligomers are the major cytotoxic species in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(9):2817-22.

48. Mendes Sousa M, Cardoso I, Fernandes R, Guimarães A, Saraiva MJ. Deposition of Transthyretin in Early Stages of Familial Amyloidotic Polyneuropathy : Evidence for Toxicity of Nonfibrillar Aggregates. *Am J Pathol*. 2001;159(6):1993-2000.

49. Andersson KO, A.; Nielsen, E. H.; Svehag, S. E.; Lundgren, E. Only amyloidogenic intermediates of transthyretin induce apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;294(2):309-14.
50. Sorgjerd K, Klingstedt T, Lindgren M, Kagedal K, Hammarstrom P. Prefibrillar transthyretin oligomers and cold stored native tetrameric transthyretin are cytotoxic in cell culture. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;377(4):1072-8.
51. Sousa MM, Du Yan S, Fernandes R, Guimaraes A, Stern D, Saraiva MJ. Familial amyloid polyneuropathy: receptor for advanced glycation end products-dependent triggering of neuronal inflammatory and apoptotic pathways. *J Neurosci.* 2001;21(19):7576-86.
52. Misumi Y, Ueda M, Obayashi K, Jono H, Su Y, Yamashita T, et al. Relationship between amyloid deposition and intracellular structural changes in familial amyloidotic polyneuropathy. *Hum Pathol.* 2012;43(1):96-104.
53. Norgren N, Olsson M, Nyström H, Ericzon B, de Teyrac M, Genin E, et al. Gene expression profile in hereditary transthyretin amyloidosis: differences in targeted and source organs. *Amyloid.* 2014;21(2):113-9.
54. Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Kametani F, Sekijima Y, Ikeda S. Wild-type transthyretin significantly contributes to the formation of amyloid fibrils in familial amyloid polyneuropathy patients with amyloidogenic transthyretin Val30Met. *Hum Pathol.* 2011;42(2):236-43.
55. Tasaki M, Ueda M, Obayashi K, Koike H, Kitagawa K, Ogi Y, et al. Effect of age and sex differences on wild-type transthyretin amyloid formation in familial amyloidotic polyneuropathy: a proteomic approach. *Int J Cardiol.* 2013;170(1):69-74.
56. Zhao L, Buxbaum JN, Reixach N. Age-related oxidative modifications of transthyretin modulate its amyloidogenicity. *Biochemistry.* 2013;52(11):1913-26.
57. Ihse E, Ybo A Fau - Suhr O, Suhr O Fau - Lindqvist P, Lindqvist P Fau - Backman C, Backman C Fau - Westermark P, Westermark P. Amyloid fibril composition is related to the phenotype of hereditary transthyretin V30M amyloidosis. *Amyloid.* 2008(1096-9896 (Electronic)).
58. Ihse E, Rapezzi C Fau - Merlini G, Merlini G Fau - Benson MD, Benson Md Fau - Ando Y, Ando Y Fau - Suhr OB, Suhr Ob Fau - Ikeda S-I, et al. Amyloid fibrils containing fragmented ATTR may be the standard fibril composition in ATTR amyloidosis. *Amyloid.* 2013(1744-2818 (Electronic)).
59. Mangione PP, Porcari R, Gillmore JD, Pucci P, Monti M, Porcari M, et al. Proteolytic cleavage of Ser52Pro variant transthyretin triggers its amyloid fibrillogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(4):1539-44.

60. Araki S, Yi S. Pathology of familial amyloidotic polyneuropathy with TTR met 30 in Kumamoto, Japan. *Neuropathology*. 2000;20 Suppl:S47-51.
61. Anan I, El-salhy M, Ando Y, Terazaki H, Suhr OB. Comparison of amyloid deposits and infiltration of enteric nervous system in the upper with those in the lower gastrointestinal tract in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Acta Neuropathol*. 2001;102(3):227-32.
62. Planté-Bordeneuve V, Ferreira A, Lalu T, Zaros C, Lacroix C, Adams D, et al. Diagnostic pitfalls in sporadic transthyretin familial amyloid polyneuropathy (TTR-FAP). *Neurology*. 2007;69(7):693-8.
63. Koike H, Ando Y, Ueda M, Kawagashira Y, Iijima M, Fujitake J, et al. Distinct characteristics of amyloid deposits in early- and late-onset transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol Sci*. 2009;287(1-2):178-84.
64. Oshima T, Kawahara S, Ueda M, Kawakami Y, Tanaka R, Okazaki T, et al. Changes in pathological and biochemical findings of systemic tissue sites in familial amyloid polyneuropathy more than 10 years after liver transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(7):740-6.
65. Harats N, Worth RM, Benson MD. Hereditary amyloidosis: Evidence against early amyloid deposition. *Arthritis & Rheumatism*. 1989;32(11):1474-6.
66. Do Amaral B, Coelho T, Sousa A, Guimaraes A. Usefulness of labial salivary gland biopsy in familial amyloid polyneuropathy Portuguese type. *Amyloid*. 2009;16(4):232-8.
67. Said G, Plante-Bordeneuve V. Familial amyloid polyneuropathy: a clinico-pathologic study. *J Neurol Sci*. 2009;284(1-2):149-54.
68. Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. *Lancet Neurol*. 2011;10(12):1086-97.
69. Maia LF, Magalhaes R, Freitas J, Taipa R, Pires MM, Osorio H, et al. CNS involvement in V30M transthyretin amyloidosis: clinical, neuropathological and biochemical findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(2):159-67.
70. Nyhlin N, Anan I, el-Salhy M, Ando Y, Suhr OB. Endocrine cells in the upper gastrointestinal tract in relation to gastrointestinal dysfunction in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Amyloid*. 1999;6(3):192-8.
71. Wixner J, Obayashi K, Ando Y, Karling P, Anan I. Loss of gastric interstitial cells of Cajal in patients with hereditary transthyretin amyloidosis. *Amyloid*. 2013;20(2):99-106.
72. Ikeda S, Hanyu N, Hongo M, Yoshioka J, Oguchi H, Yanagisawa N, et al. Hereditary generalized amyloidosis with polyneuropathy. Clinicopathological study of 65 Japanese patients. *Brain*. 1987;110 (Pt 2):315-37.

73. Saporta MA, Zaros C, Cruz MW, Andre C, Misrahi M, Bonaiti-Pellie C, et al. Penetrance estimation of TTR familial amyloid polyneuropathy (type I) in Brazilian families. *Eur J Neurol*. 2009;16(3):337-41.
74. Wixner J, Mundayat R, Karayal ON, Anan I, Karling P, Suhr OB. THAOS: gastrointestinal manifestations of transthyretin amyloidosis - common complications of a rare disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:61.
75. Coelho T, Sousa A, Lourenco E, Ramalheira J. A study of 159 Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) whose parents were both unaffected. *J Med Genet*. 1994;31(4):293-9.
76. Adams D, Coelho T, Obici L, Merlini G, Mincheva Z, Suanprasert N, et al. Rapid progression of familial amyloidotic polyneuropathy: a multinational natural history study. *Neurology*. 2015;85(8):675-82.
77. Ng Wing Tin S, Plante-Bordeneuve V, Salhi H, Goujon C, Damy T, Lefaucheur JP. Characterization of Pain in Familial Amyloid Polyneuropathy. *J Pain*. 2015;16(11):1106-14.
78. Salvi F, Pastorelli F, Plasmati R, Bartolomei I, Dall'Osso D, Rapezzi C. Genotypic and phenotypic correlation in an Italian population of hereditary amyloidosis TTR-related (HA-TTR): clinical and neurophysiological aids to diagnosis and some reflections on misdiagnosis. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:58-60.
79. Koike H, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, et al. The significance of carpal tunnel syndrome in transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid*. 2009;16(3):142-8.
80. Sakashita N, Ando Y, Jinnouchi K, Yoshimatsu M, Terazaki H, Obayashi K, et al. Familial amyloidotic polyneuropathy (ATTR Val30Met) with widespread cerebral amyloid angiopathy and lethal cerebral hemorrhage. *Pathol Int*. 2001;51(6):476-80.
81. Blevins G, Macaulay R, Harder S, Fladeland D, Yamashita T, Yazaki M, et al. Oculoleptomeningeal amyloidosis in a large kindred with a new transthyretin variant Tyr69His. *Neurology*. 2003;60(10):1625-30.
82. Jin K, Sato S, Takahashi T, Nakazaki H, Date Y, Nakazato M, et al. Familial leptomeningeal amyloidosis with a transthyretin variant Asp18Gly representing repeated subarachnoid haemorrhages with superficial siderosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(10):1463-6.
83. Beirão JM, Malheiro J, Lemos C, Beirão I, Costa P, Torres P. Ophthalmological manifestations in hereditary transthyretin (ATTR V30M) carriers: a review of 513 cases. *Amyloid*. 2015;22(2):117-22.

84. Martins AC, Rosa AM, Costa E, Tavares C, Quadrado MJ, Murta JN. Ocular Manifestations and Therapeutic Options in Patients with Familial Amyloid Polyneuropathy: A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2015;2015.
85. Algalarrondo VE, L.; Thierry, I.; Bouzeman, A.; Dasoveanu, M.; Sebag, C.; Moubarak, G.; Le Guludec, D.; Samuel, D.; Adams, D.; Dinanian, S.; Slama, M. S. Circadian rhythm of blood pressure reflects the severity of cardiac impairment in familial amyloid polyneuropathy. *Arch Cardiovasc Dis.* 2012;105(5):281-90.
86. Coutinho MC, Cortez-Dias N, Cantinho G, Conceição I, Oliveira A, Bordalo e Sa A, et al. Reduced myocardial 123-iodine metaiodobenzylguanidine uptake: a prognostic marker in familial amyloid polyneuropathy. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2013;6(5):627-36.
87. Barreiros AP, Post F, Hoppe-Lotichius M, Linke RP, Vahl CF, Schafers HJ, et al. Liver transplantation and combined liver-heart transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy: a single-center experience. *Liver Transpl.* 2010;16(3):314-23.
88. Lobato L, Beirao I, Silva M, Fonseca I, Queiros J, Rocha G, et al. End-stage renal disease and dialysis in hereditary amyloidosis TTR V30M: presentation, survival and prognostic factors. *Amyloid.* 2004;11(1):27-37.
89. Lobato L, Beirao I, Silva M, Bravo F, Silvestre F, Guimaraes S, et al. Familial ATTR amyloidosis: microalbuminuria as a predictor of symptomatic disease and clinical nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(3):532-8.
90. Beirão I, Lobato L, Costa PM, Fonseca I, Mendes P, Silva M, et al. Kidney and anemia in familial amyloidosis type I. *Kidney Int.* 2004;66(5):2004-9.
91. Wada Y, Ando Y, Kai N, Takahashi W, Kikukawa H, Nakanishi J, et al. Lower urinary tract dysfunction in type 1 familial amyloidotic polyneuropathy in Kumamoto, Japan. *Int J Urol.* 2006;13(12):1475-8.
92. Andrade MJ. Lower urinary tract dysfunction in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Neurourol Urodyn.* 2009;28(1):26-32.
93. Oliveira-e-Silva T, Campos Pinheiro L, Rocha Mendes J, Barroso E, Monteiro Pereira N. Peripheral polyneuropathy and female sexual dysfunction--familial amyloidotic polyneuropathy as an example besides diabetes mellitus. *J Sex Med.* 2013;10(2):430-8.
94. Conceição I, Gonzalez-Duarte A, Obici L, Schmidt HH, Simoneau D, Ong ML, et al. "Red-flag" symptom clusters in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst.* 2016;21(1):5-9.
95. Mathis S, Magy L, Diallo L, Boukhris S, Vallat JM. Amyloid neuropathy mimicking chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 2012;45(1):26-31.

96. Pinney JH, Whelan CJ, Petrie A, Dungu J, Banypersad SM, Sattianayagam P, et al. Senile Systemic Amyloidosis: Clinical Features at Presentation and Outcome. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(2).
97. Suanprasert N, Berk JL, Benson MD, Dyck PJ, Klein CJ, Gollob JA, et al. Retrospective study of a TTR FAP cohort to modify NIS+7 for therapeutic trials. *J Neurol Sci.* 2014;344(1-2):121-8.
98. Berk JL, Suhr OB, Obici L, Sekijima Y, Zeldenrust SR, Yamashita T, et al. Repurposing diflunisal for familial amyloid polyneuropathy: a randomized clinical trial. *Jama.* 2013;310(24):2658-67.
99. Conceição I, Costa J, Castro J, de Carvalho M. Neurophysiological techniques to detect early small-fiber dysfunction in transthyretin amyloid polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 2014;49(2):181-6.
100. Castro J, Miranda B, Castro I, de Carvalho M, Conceicao I. The diagnostic accuracy of Sudoscan in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *Clin Neurophysiol.* 2016;127(5):2222-7.
101. Hutt DF, Quigley AM, Page J, Hall ML, Burniston M, Gopaul D, et al. Utility and limitations of 3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylic acid scintigraphy in systemic amyloidosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2014;15(11):1289-98.
102. Suhr OBC, I. M.; Karayal, O. N.; Mandel, F. S.; Huertas, P. E.; Ericzon, B. G. Post hoc analysis of nutritional status in patients with transthyretin familial amyloid polyneuropathy: impact of tafamidis. *Neurol Ther.* 2014;3(2):101-12.
103. Obici L, Kuks JB, Buades J, Adams D, Suhr OB, Coelho T, et al. Recommendations for presymptomatic genetic testing and management of individuals at risk for hereditary transthyretin amyloidosis. *Curr Opin Neurol.* 2016;29 Suppl 1:S27-35.
104. Ericzon BG, Wilczek HE, Larsson M, Wijayatunga P, Stangou A, Pena JR, et al. Liver Transplantation for Hereditary Transthyretin Amyloidosis: After 20 Years Still the Best Therapeutic Alternative? *Transplantation.* 2015;99(9):1847-54.
105. Algalarrondo V, Dinanian S, Juin C, Chemla D, Bennani SL, Sebag C, et al. Prophylactic pacemaker implantation in familial amyloid polyneuropathy. *Heart Rhythm.* 2012;9(7):1069-75.
106. Obayashi K, Ando Y, Terazaki H, Yamashita S, Nakagawa K, Nakamura M, et al. Effect of sildenafil citrate (Viagra) on erectile dysfunction in a patient with familial amyloidotic polyneuropathy ATTR Val30Met. *J Auton Nerv Syst.* 2000;80(1-2):89-92.
107. Tojo K, Tsuchiya-Suzuki A, Sekijima Y, Morita H, Sumita N, Ikeda S. Upper limb neuropathy such as carpal tunnel syndrome as an initial manifestation of ATTR Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid.* 2010;17(1):32-5.

108. Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, Steen L, Suhr O, Andersen O, et al. Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet*. 1993;341(8853):1113-6.
109. Yamashita T, Ando Y, Okamoto S, Misumi Y, Hirahara T, Ueda M, et al. Long-term survival after liver transplantation in patients with familial amyloid polyneuropathy. *Neurology*. 2012;78(9):637-43.
110. Adams D, Samuel D, Goulon-Goeau C, Nakazato M, Costa PM, Feray C, et al. The course and prognostic factors of familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *Brain*. 2000;123 (Pt 7):1495-504.
111. Okamoto S, Wixner J, Obayashi K, Ando Y, Ericzon BG, Friman S, et al. Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: impact on Swedish patients' survival. *Liver Transpl*. 2009;15(10):1229-35.
112. Olofsson BO, Backman C, Karp K, Suhr OB. Progression of cardiomyopathy after liver transplantation in patients with familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. *Transplantation*. 2002;73(5):745-51.
113. Hornsten R, Wiklund U, Olofsson BO, Jensen SM, Suhr OB. Liver transplantation does not prevent the development of life-threatening arrhythmia in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese-type (ATTR Val30Met) patients. *Transplantation*. 2004;78(1):112-6.
114. Tsuchiya A, Yazaki M, Kametani F, Takei Y, Ikeda S. Marked regression of abdominal fat amyloid in patients with familial amyloid polyneuropathy during long-term follow-up after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2008;14(4):563-70.
115. Obayashi K, Ueda M, Oshima T, Kawahara S, Misumi Y, Yamashita T, et al. Pathological changes long after liver transplantation in a familial amyloidotic polyneuropathy patient. *BMJ Case Rep*. 2012;2012.
116. Beirão JM, Malheiro J, Lemos C, Matos E, Beirao I, Pinho-Costa P, et al. Impact of liver transplantation on the natural history of oculopathy in Portuguese patients with transthyretin (V30M) amyloidosis. *Amyloid*. 2015;22(1):31-5.
117. Suhr OB, Larsson M, Ericzon BG, Wilczek HE. Survival After Transplantation in Patients With Mutations Other Than Val30Met: Extracts From the FAP World Transplant Registry. *Transplantation*. 2016;100(2):373-81.
118. Lobato L, Beirao I, Seca R, Pessequeiro H, Rocha MJ, Queiroz J, et al. Combined liver-kidney transplantation in familial amyloidotic polyneuropathy TTR V30M: nephrological assessment. *Amyloid*. 2011;18 Suppl 1:190-2.
119. Yamamoto SW, H. E.; Iwata, T.; Larsson, M.; Gjertsen, H.; Soderdahl, G.; Solders, G.; Ericzon, B. G. Long-term consequences of domino liver transplantation using familial amyloidotic polyneuropathy grafts. *Transpl Int*. 2007;20(11):926-33.

120. Adams D, Lacroix C, Antonini T, Lozeron P, Denier C, Kreib AM, et al. Symptomatic and proven de novo amyloid polyneuropathy in familial amyloid polyneuropathy domino liver recipients. *Amyloid*. 2011;18 Suppl 1:174-7.
121. Bolte FJ, Schmidt HH, Becker T, Braun F, Pascher A, Klempnauer J, et al. Evaluation of domino liver transplantations in Germany. *Transpl Int*. 2013;26(7):715-23.
122. Bulawa CE, Connelly S, Devit M, Wang L, Weigel C, Fleming JA, et al. Tafamidis, a potent and selective transthyretin kinetic stabilizer that inhibits the amyloid cascade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(24):9629-34.
123. Coelho TM, L. F., Martins da Silva A, Waddington Cruz M, Plante-Bordeneuve V, Lozeron P, Suhr OB, et al. Tafamidis for transthyretin familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial. *Neurology*. 2012;79(8):785-92.
124. Coelho T, Maia LF, da Silva AM, Cruz MW, Plante-Bordeneuve V, Suhr OB, et al. Long-term effects of tafamidis for the treatment of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol*. 2013;260(11):2802-14.
125. Lozeron P, Théaudin M, Mincheva Z, Ducot B, Lacroix C, Adams D, et al. Effect on disability and safety of Tafamidis in late onset of Met30 transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *European Journal of Neurology*. 2013;20(12):1539-45.
126. Merlini G, Planté-Bordeneuve V, Judge DP, Schmidt H, Obici L, Perlini S, et al. Effects of Tafamidis on Transthyretin Stabilization and Clinical Outcomes in Patients with Non-Val30Met Transthyretin Amyloidosis. *J Cardiovasc Transl Res*. 2013;6(6):1011-20.
127. Maurer MS, Grogan DR, Judge DP, Mundayat R, Packman J, Lombardo I, et al. Tafamidis in transthyretin amyloid cardiomyopathy: effects on transthyretin stabilization and clinical outcomes. *Circ Heart Fail*. 2015;8(3):519-26.
128. Tojo KS, Y.; Kelly, J. W.; Ikeda, S. Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis. *Neurosci Res*. 2006;56(4):441-9.
129. Sekijima Y, Tojo K, Morita H, Koyama J, Ikeda S. Safety and efficacy of long-term diflunisal administration in hereditary transthyretin (ATTR) amyloidosis. *Amyloid*. 2015;22(2):79-83.
130. Takahashi R, Ono K, Shibata S, Nakamura K, Komatsu J, Ikeda Y, et al. Efficacy of diflunisal on autonomic dysfunction of late-onset familial amyloid polyneuropathy (TTR Val30Met) in a Japanese endemic area. *J Neurol Sci*. 2014;345(1-2):231-5.
131. Cardoso I, Saraiva MJ. Doxycycline disrupts transthyretin amyloid: evidence from studies in a FAP transgenic mice model. *FASEB J*. 2006;20(2):234-9.
132. Cardoso I, Martins D, Ribeiro T, Merlini G, Saraiva MJ. Synergy of combined doxycycline/TUDCA treatment in lowering Transthyretin deposition and associated biomarkers: studies in FAP mouse models. *J Transl Med*. 2010;8:74.

133. Obici L, Cortese A, Lozza A, Lucchetti J, Gobbi M, Palladini G, et al. Doxycycline plus tauroursodeoxycholic acid for transthyretin amyloidosis: a phase II study. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:34-6.
134. Coelho T, Adams D, Silva A, Lozeron P, Hawkins PN, Mant T, et al. Safety and efficacy of RNAi therapy for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med*. 2013;369(9):819-29.
135. Adams D, Coelho T, Conceicao I, Waddington-Cruz M, Schmidt H, Buades J, et al. Phase 2 Open-Label Extension Study (OLE) of Patisiran, an Investigational RNAi Therapeutic for Familial Amyloid Polyneuropathy (FAP) (S38.003). *Neurology*. 2016;86(16 Supplement).
136. Butler JS, Chan A, Costelha S, Fishman S, Willoughby JL, Borland TD, et al. Preclinical evaluation of RNAi as a treatment for transthyretin-mediated amyloidosis. *Amyloid*. 2016:1-10.
137. Benson MDK-B, B.; Zeldenrust, S. R.; Siesky, A. M.; Bodenmiller, D. M.; Showalter, A. D.; Sloop, K. W. Targeted suppression of an amyloidogenic transthyretin with antisense oligonucleotides. *Muscle Nerve*. 2006;33(5):609-18.
138. Ackermann EJ, Guo S, Booten S, Alvarado L, Benson M, Hughes S, et al. Clinical development of an antisense therapy for the treatment of transthyretin-associated polyneuropathy. *Amyloid*. 2012;19 Suppl 1:43-4.
139. Benson M, Kincaid J, Ackermann E, Monia B. A Phase 3 Study to Evaluate ISIS-TTRRx in Patients with Transthyretin Familial Amyloid Polyneuropathy (TTR-FAP): Study Design and Baseline Demographics (S50.006). *Neurology*. 2015;84(14 Supplement).