

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS**

CAROLINA LAVIGNE MOREIRA

**EPIDEMIOLOGIA MUTACIONAL DA
POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR
TRANSTIRETINA EM UM SERVIÇO BRASILEIRO
TERCIÁRIO DE NEUROPATIAS PERIFÉRICAS**

**Ribeirão Preto – SP
2016**

CAROLINA LAVIGNE MOREIRA

**Epidemiologia mutacional da polineuropatia
amiloidótica familiar transtiretina em um
serviço brasileiro terciário de neuropatias
periféricas**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Neurociências e Ciências do Comportamento da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Neurologia Clínica

Área de Concentração: Neurologia / Neurociências

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Jr

Ribeirão Preto – SP 2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Lavigne Moreira, Carolina

Epidemiologia mutacional da polineuropatia amiloidótica familiar transtiretina em um serviço brasileiro terciário de neuropatias periféricas.

Ribeirão Preto, 2016.

125 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Neurologia / Neurociências.

Orientador: Marques Jr, Wilson.

1. Amiloidose, 2. Amiloidose transtiretina, 3. Polineuropatia amiloidótica familiar, 4. Transtiretina, 5. Neuropatia periférica

FOLHA DE APROVAÇÃO

Carolina Lavigne Moreira

Epidemiologia mutacional da polineuropatia amiloidótica familiar transtiretina em um serviço brasileiro terciário de neuropatias periféricas.

Dissertação apresentada ao Departamento de
Neurociências e Ciências do Comportamento da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Neurologia Clínica

Área de Concentração: Neurologia / Neurociências

Aprovado em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição: FMRP-USP

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: FMRP-USP

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição:

Assinatura: _____

RESUMO

Lavigne Moreira, C. Epidemiologia mutacional da polineuropatia amiloidótica familiar transtiretina em um serviço brasileiro terciário de neuropatias periféricas. 2016. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Introdução: A amiloidose transtiretina é uma doença autossômica dominante decorrente de uma proteína transtiretina (TTR) variante, que sofre uma mudança conformacional e origina um tetrâmero de TTR instável, passo que é decisivo para o início da formação dos depósitos amilóides em diferentes órgãos e tecidos. Na maioria dos pacientes, o sistema nervoso periférico é o alvo principal, resultando na polineuropatia amiloidótica familiar transtiretina (TTR-FAP), classicamente uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica progressiva, evoluindo para o óbito em aproximadamente 10 anos. A mutação de ponto mais frequente no mundo, incluindo o Brasil, é a TTRVal30Met, entretanto mais de 100 mutações de ponto diferentes já foram descritas. **Objetivos:** descrever a epidemiologia mutacional do gene TTR na polineuropatia amiloidótica familiar e correlacionar estas mutações com seus achados clínicos e

eletroneuromiográficos. **Métodos:** estudo de coorte, descritivo e retrospectivo de um grupo de pacientes brasileiros encaminhados para o serviço de neurogenética do HC da FMRP-USP para investigação de neuropatia periférica, cujo estudo genético identificou uma mutação no gene TTR, com posterior análise transversal dos resultados obtidos entre os subgrupos com as diferentes mutações. **Resultados:** um total de 128 pacientes tiveram uma mutação de ponto no gene TTR identificada, dos quais 12 (9,4%) pacientes apresentaram uma mutação não TTRVal30Met, incluindo 4 patogênicas (6 pacientes, 4,7%) e 2 não patogênicas (6 pacientes, 4,7%). As mutações não TTRVal30Met patogênicas foram TTRAsp38Tyr (2 pacientes), TTRIle107Val (2 pacientes), TTRVal71Ala (1 paciente) e TTRVal122Ile (1 paciente). Dentre as mutações não patogênicas, foram encontradas TTRGly6Ser (5 pacientes) e TTRThr119Thr (1 paciente). A mutação TTRVal30Met estava presente em 116 (90,6%) pacientes, dos quais 52 possuíam dados clínicos e eletroneuromiográficos completos: 39 (75%) tiveram início precoce e 13 (25%), início tardio. O grupo de início precoce apresentou-se como a forma clássica da PAF-TTR, sem predileção de gênero (homens: 53,8%), manifestação inicial como neuropatia de fibras finas e autonômica (82,1%) e história familiar positiva (90,3%). A ENMG estava normal em 36,7% destes pacientes. O envolvimento cardiovascular foi caracterizado mais frequentemente por alterações da condução cardíaca (84,2%), sendo menos prevalente a cardiomiopatia (11,1%). Por outro lado,

o grupo de início tardio mostrou uma predominância do sexo masculino (92,3%), presença de sintomas motores na primeira consulta (38,5%), resultando numa neuropatia sensitivo-motora com acometimento de fibras grossas e história familiar negativa (69,2%). Todos apresentaram neuropatia sensitivo-motora na ENMG. Neste grupo, a cardiomiopatia estava presente em 71,4% dos pacientes. Todos os pacientes, em ambos os grupos, tiveram disautonomia em algum momento do seu seguimento clínico. **Conclusões:** no nosso estudo aproximadamente 5% dos pacientes com FAP-TTR tinham uma mutação não TTRVal30Met, demonstrando a importância do sequenciamento do gene TTR em pacientes com história clínica sugestiva e *screening* negativo para a mutação TTR Val30Met. Além disso, os pacientes brasileiros com FAP-TTRVal30Met apresentaram achados clínicos e eletroneuromiográficos similares as populações descritas com esta mutação em outros países.

Palavras-chave: amiloidose, amiloidose transtiretina, polineuropatia amiloidótica familiar, transtiretina, neuropatia periférica.

ABSTRACT

Lavigne Moreira, C. Mutational epidemiology of transthyretin familial amyloidotic polyneuropathy in a Brazilian tertiary center of peripheral neuropathy. 2016. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Background: Transthyretin amyloidosis is an autosomal dominant disease caused by variant transthyretin, that is misfolded, originating an unstable transthyretin tetramer, a rate-limiting step in the formation of the amyloid deposits in different organs and tissues. In most patients, the peripheral nervous system is the main target, leading to transthyretin familial amyloid neuropathy (TTR-FAP), classically characterized as a progressive sensory-motor and autonomic neuropathy, that leads to death in about 10 years. TTRVal30Met is the most frequent point mutation worldwide, including Brazil, but more than 100 different point mutations have been described.

Objectives: describe the mutational epidemiology of TTR gene in TTR-FAP and characterize its clinical and electrophysiological findings. **Methods:** a descriptive and retrospective study of a group of Brazilian patients forwarded to the Neurogenetics or Peripheral Nerve Clinics from FMRP-USP whose etiological investigation identified a mutation in the TTR gene. A cross-sectional analysis evaluating the subgroups with different mutations was also carried

on. **Results:** we identified one hundred and twenty eight patients carrying a TTR point mutation, of whom 12 (9,4%) harbored a non-Val30Met mutation, including 4 pathogenic (6 patients, 4,7%) and 2 non-pathogenic abnormalities (6 patients, 4,7%). The non Val30Met pathogenic mutations were TTRAsp38Tyr (2 patients), TTRIle107Val (2 patients), TTRVal71Ala (1 patient) and TTRVal122Ile (1 patient). Among the non-pathogenic mutations, we found the TTRGly6Ser (5 patients) and the TTRThr119Thr (1 patient). The TTRVal30Met mutation was present in 116 (90,6%) patients, of whom 52 had a complete clinical and neurophysiological data: 39 (75%) with early-onset and 13(25%) with late-onset neuropathies. The early-onset group presented as the classic TTR-FAP, with no gender predominance (male: 53,8%), the first manifestations were those of a small fiber sensory and autonomic neuropathy (82,1%) and a highly positive family history (90,3%). EMG was normal in 36,7% of these patients. The cardiovascular involvement was characterized by frequent ECG abnormalities (84,2%), less often associated with cardiomyopathy (11,1%). On the other hand, the late-onset TTRVal30Met showed a male predominance (92,3%), presence of motor complaints in the first evaluation (38,5%) resulting in a sensory-motor polyneuropathy with large fiber involvement and a negative family history (69,2%). All patients presented a sensory and motor neuropathy on EMG examination. In this group, cardiomyopathy was frequently associated with the neuropathy (71,4%). All patients, in both groups,

had autonomic symptoms at some point in clinical follow up.

Conclusions: In our study almost 5% of the patients with TTR-FAP have a non Val30Met pathogenic mutation, highlighting the importance of sequencing the whole TTR gene in patients with a suggestive clinical history and negative screening for TTRVal30Met mutation. In addition, the Brazilian patients we studied with early and late onset TTR-FAP, present similar findings to TTRVal30Met populations from other countries submitted to similar studies.

Key-words: amyloidosis, transthyretin amyloidosis, familial amyloidotic polyneuropathy, transthyretin, peripheral neuropathy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

ATTR: amiloidose transtiretina

CAF-TTR: cardiomiopatia amiloidótica familiar transtiretina

CPRE: colangiopancreatografia retrógrada endoscópica

DNMI: doença do neurônio motor inferior

ECG: eletrocardiograma

ENMG: eletroneuromiografia

EUA: Estados Unidos da América

HCFMRP-USP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão

Preto da Universidade de São Paulo

IMC: índice de massa corpórea

IMCm: índice de massa corpórea modificado

MRC: *Medical Research Council*

NA: neuropatia axonal

NIS: *neuropathy impairment score*

mNIS: modified NIS+7

NIS-LL: *neuropathy impairment score – lower limbs*

NVI: neuropatia com velocidades intermediárias

NDM: neuropatia desmielinizante

PAF-TTR: polineuropatia amiloidótica familiar transtiretina

PAMC: potencial de ação muscular composto

PAS: potencial de ação sensitivo

PIDC: polineuropatia inflamatória crônica

QST: *Quantitative sensory testing*

RNMm: RNA mensageiro

RNM: Ressonância nuclear magnética

ROT: reflexos osteotendíneos

SiRNAs: *small interfering RNAs*

STC: síndrome do túnel do carpo

TQOL: total quality of life

TOF: transplante ortotópico de fígado

TTR: transtiretina

VC: velocidade de condução

VCM: velocidade de condução motora

VN: valor de normalidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. AMILOIDOSE HEREDITÁRIA	17
1.2. DESCRIÇÃO HISTÓRICA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR TRANSTIRETINA.....	19
1.3. ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA.....	21
1.3.1. ETIOLOGIA.....	21
1.3.2. FISIOPATOLOGIA.....	22
1.4. EPIDEMIOLOGIA MUTACIONAL.....	25
1.4.1. EPIDEMIOLOGIA MUTACIONAL NO BRASIL.....	28
1.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	28
1.5.1. ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	30
1.5.2. ACOMETIMENTO CARDÍACO.....	32
1.5.3. ACOMETIMENTO LEPTOMENÍGEO E OCULAR.....	33
1.5.4. CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA-FENOTÍPICA DA FAP-TTRVAL30MET ..	34
1.6. DIAGNÓSTICO	38
1.6.1. INVESTIGAÇÃO DA NEUROPATIA	38
1.6.2. INVESTIGAÇÃO DO ACOMETIMENTO CARDÍACO	40
1.6.3. INVESTIGAÇÃO DO ACOMETIMENTO DE OUTROS ÓRGÃOS	42
1.6.4. DIAGNÓSTICO DE ATTR	43
1.6.5. AVALIAÇÃO DE PORTADORES ASSINTOMÁTICOS	45

1.6.6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	46
1.7. TRATAMENTO	48
1.7.1. TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO.....	50
1.7.2. ESTABILIZADORES DE TETRÂMERO DE TTR.....	53
1.7.2.1. TAFAMIDIS	54
1.7.2.2. DIFLUNISAL	55
1.7.3. TERAPIAS GÊNICAS: SILENCIADORES DO GENE TTR.....	56
1.7.3.1. OLIGONUCLEOTÍDEOS ANTISENSE	57
1.7.3.2. SiRNA	58
2. OBJETIVOS	60
2.1. OBJETIVO GERAL	60
3. MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1. DESENHO DO ESTUDO	61
3.2. PACIENTES	61
3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	62
3.4. CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO	63
3.5. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA	63
3.6. ANÁLISE GENÉTICA DO GENE TTR	66
3.7. ESTUDOS ELETROFISIOLÓGICOS	66
3.8. NERVOS SENSITIVOS	67
3.9. NERVOS MOTORES	69
3.10. PADRÃO NEUROFISIOLÓGICO DE ACOMETIMENTO DOS SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	70

3.11. AVALIAÇÃO DO ACOMETIMENTO CARDIOVASCULAR	71
3.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
3.13. APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA.....	73
4. RESULTADOS	74
4.1. ANÁLISE DESCRITIVA DA POPULAÇÃO ESTUDADA	74
4.2. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET30 PATOGÊNICO.....	75
4.2.1. DESCRIÇÃO CLÍNICA DOS DOIS PACIENTES COM A MUTAÇÃO TTRAPS38TYR	77
4.2.2. DESCRIÇÃO CLÍNICA DOS DOIS PACIENTES COM A MUTAÇÃO TTRILE107VAL	78
4.2.3. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE COM A MUTAÇÃO TTRVAL71ALA	79
4.2.4. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE COM A MUTAÇÃO TTRVAL122ILE	82
4.2.5. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE BOLIVIANO.....	82
4.3. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET NÃO PATOGÊNICO.....	82
4.4. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO TTRMET30.....	83
....4.4.1. MANIFESTAÇÃO CLÍNICA INICIAL.....	85
....4.4.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA NA PRIMEIRA CONSULTA	87
....4.4.3. DISAUTONOMIA NO PERÍODO DE SEGUIMENTO.....	89
4.4.4. HISTÓRIA FAMILIAR.....	90

4.4.5. PADRÃO NEUROFISIOLÓGICO DE ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	91
4.4.5.1 OUTROS PADRÕES NEUROFISIOLÓGICO DE ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO.....	92
4.4.6. ACOMETIMENTO CARDIOVASCULAR.....	93
4.4.6.1.ALTERAÇÃO DA CONDUÇÃO CARDÍACA.....	93
4.4.6.1. CARDIOPATIA AMILÓIDE.....	94
4.4.7. ACOMETIMENTO MULTISSISTÊMICO NO GRUPO TTRMET30.....	95
4.4.8. TRATAMENTO COM TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO.....	96
5. DISCUSSÃO	98
5.1. CASUÍSTICA E PERFIL EPIDEMIOLÓGICO.....	98
5.2. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET30 PATOGÊNICO.....	101
5.2.1TTRASP38TYR.....	102
5.2.2.TTRILE107VAL.....	103
5.2.3.TTRVAL71ALA.....	104
5.2.4.TTRVAL122ILE.....	106
5.3. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO TTRMET30.....	107
6. CONCLUSÕES	115
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116

1. INTRODUÇÃO

1.1. AMILOIDOSE HEREDITÁRIA

As amiloidoses sistêmicas são um grupo de doenças caracterizadas pelo depósito extracelular de fibrilas amilóides em diversos tecidos e órgãos, incluindo vasos sanguíneos, coração, rins, olhos, meninges, nervos periféricos dentre outros, resultando em dano estrutural e perda progressiva de função. Os depósitos amilóides são formados pelo acúmulo de fibrilas amilóides, que se originam da agregação de proteínas com estrutura, preferencialmente, em folhas beta. São inúmeras as proteínas que podem dar origem a estas fibrilas amilóides, o que irá determinar a natureza adquirida ou hereditária da amiloidose (HUND,2001).

A amiloidose hereditária é resultante de mutações gênicas de proteínas, cujas variantes são susceptíveis a formação dos depósitos amilóides. A amiloidose hereditária mais comum é a amiloidose transtiretina (ATTR) (SEKIJIMA,2015).

A ATTR é uma doença de herança autossômica dominante causada, na grande maioria das vezes, por mutações de ponto (substituição de um nucleotídeo) no gene da transtiretina, gene *TTR*, que resulta na formação de uma variante instável, que se acumula em inúmeros tecidos sob a forma de depósito amilóides (ANDO, 2013). Até o momento, afora as mutações de

ponto, há apenas a descrição de uma microdeleção de um aminoácido (TTRVal122del) e duas mutações de ponto TTR por substituição de dois nucleotídeos (TTR Tyr69Ile e TTR Glu54Leu) como causa da ATTR (CONNORS, 2003; Takei, 2003, BENSON, 2007).

Em geral, na ATTR, o principal tecido afetado é o sistema nervoso periférico, principalmente na TTRVal30Met, apresentando-se como uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica, conhecida como polineuropatia amiloidótica familiar pela transtiretina (PAF-TTR). Outros tecidos frequentemente afetados são o coração, o corpo vítreo e as leptomeninges. Quando estes últimos predominam, são conhecidos, respectivamente, com cardiomiopatia amiloidótica familiar e amiloidose leptomeningea familiar (SEKIJIMA, 2015). Algumas mutações, por exemplo a TTRVal122Ile, têm preferência pelo acometimento cardíaco.

O diagnóstico de FAP-TTR deve ser considerado na presença de uma polineuropatia sensitivo-motora associado a pelo menos um dos seguintes: história familiar de neuropatia comprometendo inicialmente fibras finas, disfunção autonômica precoce, envolvimento cardíaco, diarreia ou constipação ou alternância de diarreia com constipação, perda inexplicável de peso, síndrome do túnel do carpo, envolvimento renal ou opacidades vítreas (CONCEIÇÃO, 2016). O diagnóstico definitivo da ATTR é feito pela biópsia tecidual, com a demonstração de depósitos amilóides extracelulares, e pelo teste genético, que permite a identificação uma mutação TTR amiloidogênica (ANDO, 2013).

Nas duas últimas décadas, o único tratamento disponível para a ATTR era o transplante ortotópico de fígado (TOF), tendo como fatores

independentes de sobrevida o início precoce (<50 anos de idade), a presença de mutação TTRVal30Met, a menor duração da doença e o maior índice de massa corporal modificado (IMCm). Na decisão do tratamento com o TOF deve-se levar em consideração a possibilidade de progressão da cardiomiopatia e dos depósitos oculoleptomeningeos e os riscos relacionados ao procedimento cirúrgico e à imunossupressão pós-transplante (ERICZON, 2015). Estratégias terapêuticas promissoras despontaram nos últimos 5 anos: os estabilizadores dos tetrâmeros, que implicam na redução do potencial amiloidogênico da TTR variante através da ligação de uma pequena molécula estabilizadora do tetrâmero de TTR (diflunisal e tafamidis); e as terapias gênicas, que reduzem a produção da TTR, tanto variante quanto selvagem, pelo silenciamento genético (*small interfering RNAs* (SiRNAs) e oligonucleotídeos antisense) (CARR,2016).

1.2. DESCRIÇÃO HISTÓRICA DA POLINEUROPATIA AMILOIDÓTICA FAMILIAR TRANSTIRETINA

A PAF-TTR foi inicialmente descrita em 1952 por Andrade, em Portugal, seguida pela descrição, quase duas décadas depois, no Japão e na Suécia (ANDO,2013).

Andrade (1952) descreveu uma série de 64 casos de uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica, com provável natureza familiar e

invariavelmente fatal. Em seu artigo seminal relata que foram estudados 51 pacientes pertencentes a 12 famílias e 13 pacientes como casos isolados, agrupados em povoados bem localizados em Portugal, principalmente Póvoa de Varzim e Vila do Conde. A doença se iniciava ou como uma neuropatia sensitiva, ou com sintomas autonômicos, ou ainda como uma combinação destas duas apresentações. Tratava-se de uma neuropatia comprimento-dependente com dissociação do acometimento sensitivo, envolvendo inicialmente apenas a sensibilidade térmica e dolorosa. O aparecimento de fraqueza e o acometimento da sensibilidade tátil e postural eram mais tardios. O estudo histopatológico por autópsia e de alguns espécimes obtidos em vida demonstrou a presença de amiloidose generalizada (ANDRADE, 1952)

Araki et al (1968), ao descrever uma família japonesa com 25 membros afetados pela doença que denominou amiloidose polineurítica, confirmou os achados clínicos e histopatológicos descritos previamente por Andrade (1952), acrescentando que a doença tinha, provavelmente, um padrão de herança autossômica dominante, com início dos 20 aos 40 anos de idade. Observou ainda que alguns dos pacientes estudados tinham alterações eletrocardiográficas e, menos frequentemente, aumento da área cardíaca (Araki, 1968).

Inicialmente acreditava-se que a ocorrência da PAF-TTR estava restrita a áreas endêmicas, principalmente Portugal, Japão e Suécia. Entretanto, com o avanço diagnóstico proporcionado pela imunohistoquímica e pela biologia molecular, observou-se que a PAF-TTR está presente em todo mundo, incluindo casos esporádicos (Ando, 2013).

1.3. ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

1.3.1. ETIOLOGIA

A proteína precursora amiloide da ATTR é a transtiretina, codificada pelo gene *TTR*, localizado no cromossomo 18q12.1. Este gene é formado por 4 exons, sendo que o exon 1 decodifica o peptídeo de sinal e os três primeiros aminoácidos da transtiretina e os exons de 2 a 4 são os responsáveis pelos demais aminoácidos deste polipeptídeo (resíduos 4 a 127) (ADAMS, 2001).

A ATTR é uma doença autossômica dominante causada, principalmente, por uma mutação de ponto em um alelo do gene *TTR* com a substituição de um nucleotídeo, resultando na troca de um aminoácido na estrutura da transtiretina. Estas mutações ocorrem nos exons 2-4 e, até o momento, nenhuma variante patogênica foi descrita envolvendo os três aminoácidos do exon 1.

A primeira variante patogênica descrita foi a *TTR*Val30Met, com focos endêmicos em Portugal, no Japão e na Suécia, mas encontrada de forma esporádica em inúmeros outros países. Atualmente, mais de 100 variantes patogênicas da *TTR* já foram descritas na literatura (SEKIJIMA,2012; ADAMS,2001).

Existem ainda mutações de ponto no gene *TTR*, cuja transtiretina variante não é capaz de formar depósitos amilóides e, por conseguinte não causa a ATTR. Algumas destas variantes não patogênicas chegam mesmo a

aumentar a estabilidade do tetrâmero (mutações supressoras) (HUND, 2001; SEKIJIMA,2008).

1.3.2. FISIOPALOGIA

A transtiretina é uma proteína rica em subunidades com formato de folhas β , sintetizada, principalmente, no fígado e liberada na corrente sanguínea sob a forma de um tetrâmero estável de transtiretina. Além disso, é produzida em outros dois sítios: no sistema nervoso central, pelo plexo coroide, e liberada no líquido; e no olho, pelo epitélio pigmentar da retina. Sua síntese inicia-se no período embrionário e estende-se por toda a vida, entretanto ela não parece ser essencial para a vida, observação baseada em dados de estudos com ratos TTR *knockout* que apresentaram um desenvolvimento normal (SEKIJIMA,2008).

As funções conhecidas da transtiretina são o transporte da tiroxina (T_4) e participação do complexo proteína ligadora do retinol-vitamina A (BENSON, 2007). O tetrâmero de transtiretina contém dois sítios internalizados idênticos para ligação da tiroxina, entretanto menos de 1% do total da tiroxina circulante é transportada por este tetrâmero, uma vez que a tiroxina tem uma afinidade maior pela globulina ligadora da tireóide e porque sua concentração sérica é baixa comparada a concentração do tetrâmero de transtiretina (SEKIJIMA,2008). O complexo proteína ligadora de retinol-vitamina A se liga no exterior do tetrâmero de TTR, utilizando-se de quatro sítios de ligação, mas

acessível a apenas dois complexos simultaneamente (BENSON, 2007; SEKIJIMA, 2008).

Na ATTR, o alelo com a mutação no gene *TTR* produz uma transtiretina variante, que sofre uma mudança conformacional e origina um tetrâmero de transtiretina instável, passo que é decisivo para o início da formação dos depósitos amilóides. Os tetrâmeros de transtiretina se dissociam em monômeros pró-amiloidogênicos, que por sua vez se polimerizam em oligômeros de transtiretina e, com o depósito gradual da proteína, formam as fibrilas amilóides, que se acumulam em inúmeros tecidos e órgãos (SEKIJIMA, 2012; SEKIJIMA, 2016).

O grau de instabilidade termodinâmica e cinética do tetrâmero de transtiretina varia com a mutação do gene *TTR* e determina a eficácia de sua secreção pelas células hepáticas. A secreção da transtiretina pelas células é regulada por um sistema de controle de qualidade constituído pelo retículo endoplasmático, que degrada a transtiretina variante muito instável, diminuindo sua concentração plasmática. Desta forma, existem mutações que são mais amiloidogênicas, que originam variantes mais instáveis, mas que ainda conseguem sobrepor o sistema de controle de qualidade celular, garantindo uma maior concentração plasmática e gerando fenótipos mais graves da doença (SEKIJIMA, 2016). As mutações não patogênicas e as supressoras produzem uma transtiretina variante com grau de estabilidade termodinâmica e cinética igual ou maior que a transtiretina selvagem, respectivamente (SEKIJIMA,2008).

Os depósitos amilóides, ao se acumularem nos inúmeros tecidos e órgãos, geram um dano tecidual por compressão direta, obstrução e falência

da circulação sanguínea local, exemplificados pela síndrome do túnel do carpo, glaucoma e opacidades vítreas. Associado ao dano estrutural resultante do depósito de fibrilas amilóides, há o efeito citotóxico causado pelos monômeros e oligômeros de baixo peso molecular formados pela transtiretina variante (SEKIJIMA,2016). Acredita-se que este efeito citotóxico seja potencializado pela forma oxidada da transtiretina, sugerindo que as formas tardias da doença poderiam estar relacionadas as modificações oxidativas da TTR causadas pelo envelhecimento (ZHAO,2013).

Os principais órgãos afetados são o sistema nervoso periférico, o coração, as leptomeninges e os olhos, responsáveis pelos três principais fenótipos da doença: polineuropatia amiloidótica familiar (PAF-TTR), cardiomiopatia amiloidótica familiar (CAF-TTR) e a amiloidose leptomenígea. Sabe-se que diferentes mutações TTR apresentam predisposição a acometer tecidos e órgãos específicos, mas os mecanismos por trás desta seletividade permanecem desconhecidos.

Análises bioquímicas dos depósitos amilóides no coração e nos nervos periféricos demonstraram que as fibrilas amilóides são constituídas por 60-70% de transtiretina variante e 30-40% de transtiretina selvagem. Isso foi marcadamente diferente do que foi observado nas análises das leptomeninges e corpo vítreo, em que a transtiretina selvagem constituía apenas 10%. Tal achado sugere uma fisiopatologia diferente para os acometimentos cardíaco e do sistema nervoso periférico, comparado com o acometimento do sistema nervos central e ocular (BENSON, 2012).

1.4. EPIDEMIOLOGIA MUTACIONAL

A ATTR é causada, em sua imensa maioria, por uma mutação de ponto no gene *TTR*, caracterizada pela substituição de um nucleotídeo, com modificação de um resíduo de aminoácido numa posição específica na estrutura final da transtiretina. Até o momento, afora as mutações de ponto, há apenas a descrição de uma microdeleção de um aminoácido (TTRVal122del) e duas mutações de ponto TTR por substituição de dois nucleotídeos (TTRTyr69Ile e TTRGlu54Leu) como causa da ATTR (CONNORS, 2003; Takei, 2003, BENSON, 2007).

Inicialmente, acreditava-se que a ATTR estava restrita a áreas endêmicas, entretanto sabe-se hoje que esta é uma doença encontrada em todo o mundo, tendo sido descritas mais de 120 mutações de ponto patogênicas (CONNORS,2003; <http://www.amyloidosismutations.com/mut-attr.php>).

A TTRVal30Met, que resulta da substituição da valina pela metionina na posição 30 da cadeia de aminoácidos da transtiretina, é a mais comum no mundo e descrita de forma endêmica em Portugal, no Japão e na Suécia. Em Portugal, a mutação TTRVal30Met é responsável por 99% dos casos e estudos epidemiológicos prévios no norte de Portugal (povoados Póvoa de Varzin e Vila do Conde) descreveram uma prevalência de PAF-TTR de 1/1000 e uma frequência de portador da mutação de 1/538 (CONCEIÇÃO, 2012). Três outras mutações são descritas em Portugal: TTRVal28Met (0,8% dos casos), TTRSer52Pro e TTRSer50Arg (as duas últimas correspondendo a 0,2% dos

casos) (PARMAN, 2016). A ATTR TTRVal30Met também é endêmica na Suécia, com focos localizados no norte do país. Todavia, três outras mutações já foram identificadas em suecos: TTRAla45Ser e TTRHis88Arg, responsável pelo fenótipo FAP-TTR, e TTRTyr69His, com o envolvimento óculo-leptomeníngeo (JANUNGER, 2000; SUHR, 2003, PARMAN, 2016).

O Japão também tem a TTRVal30Met como a sua mutação mais frequente, havendo dois grandes focos endêmicos: cidade de Arao, na prefeitura de Kumamoto, e a aldeia de Ogawa, na prefeitura de Nagano. Outras famílias TTRVal30Met foram encontradas em diferentes regiões do Japão e não foi encontrada nenhuma relação genealógica entre estas famílias. O reconhecimento de mutações não-TTRVal30Met entre pacientes japoneses é crescente e as três primeiras foram descritas em 1990 (TTRGlu42Gly, TTRSer50Arg, TTRTyr114Cys) (IKEDA, 2002).

Planté- Bordeneuve et al. (1998) descreveu o perfil mutacional de 65 paciente provenientes de 29 famílias de ascendência francesa, em que 48% do total das famílias carregavam a mutação TTRVal30Met. No restante das famílias foram relatadas 7 mutações não TTRVal30Met, apontando para uma variabilidade genotípica maior, comparado com Portugal e Suécia (TTRLys35Asn, TTRThr49Ala, TTRSer77Tyr, TTRSer77Phe, TTRAla91Ser, TTRIle107Val, TTRTyr116Ser). Um paciente que possuía a mutação TTRSer77Phe era heterozigoto composto, com o outro alelo apresentando a mutação não patogênica TTRGly6Ser (PLANTÉ-BORDENEUVE, 1998).

Nos EUA, a variante patogênica mais comum é a TTR Val122Ile, que é detectada em quase 3-4% da população afro-americana. Zhen et al. (2015) fez uma análise retrospectiva da frequência de mutações encontradas em 284

pacientes com diagnóstico de amiloidose familiar transtiretina e não transtiretina atendidos em um único centro de referência nos EUA. Neste estudo, as mutações TTR mais comuns foram a TTRThr60Ala (24%), TTRVal30Met (15%), TTRVal122Ile (10%) e TTRSer77Tyr (5%). A justificativa para que a mutação TTRThr60Ala tenha sido a mais comum foi o fato de que a maior parte da população do estudo era composta por brancos (ZHEN,2015).

A TTRThr60Ala é a mutação mais frequente descrita na população do Reino Unido, o que foi determinado pela existência de uma mutação fundadora comum proveniente no noroeste da Irlanda. Em um estudo unicêntrico realizado neste país com um total de 37 pacientes com ATTR, A TTRThr60Ala foi encontrada em 47% do total, seguida por TTRVal30Met (22%), TTRGlu89Lys e TTRVal122Ile (6% cada), TTRGly47Val (5%) e o restante (22%) por outras mutações menos frequentes (CARR,2016).

No México, foi descrito apenas um caso esporádico com a mutação TTRVal30Met, tratando-se de uma paciente do sexo feminino, com apresentação de início tardio e manifestação clínica atípica com envolvimento óculoleptomeningeo (HERRICK, 1996). Os demais casos com pacientes mexicanos, relatados na literatura, envolvem mutações não TTRVal30Met: TTRSer50Arg, TTRSer52Pro e TTRGly47Ala (GONZALEZ-DUARTE, 2012; GONZALEZ-DUARTE, 2013).

O avanço da biologia molecular colocou em evidência a grande heterogeneidade genotípica da ATTR e o seu reconhecimento é fundamental para o diagnóstico acertado e precoce.

1.4.1. EPIDEMIOLOGIA MUTACIONAL NO BRASIL

Os estudos com populações brasileiras descreveram que a mutação mais frequentemente encontrada é a TTRVal30Met, o que pode ser entendido pela colonização do Brasil pelos portugueses. Saporta et al (2009) avaliou 13 famílias brasileiras com ATTRVal30Met através de uma análise de haplótipo, comparando com pacientes portugueses e suecos também com ATTRVal30Met, e demonstrou um haplótipo comum entre os pacientes brasileiros, sugerindo um a presença de um ancestral comum – efeito fundador – de provável origem portuguesa. (CRUZ, 2012, SAPORTA, 2009).

Até o momento quatro mutações não-TTRVal30Met foram descritas no Brasil, apresentadas em ordem cronológica: TTRVal71Ala (MARQUES, 2010), TTRIle107Val (CRUZ, 2012), TTRAla19Asp (FERREIRA, 2013) e TTRAsp38Tyr (LAVIGNE-MOREIRA, 2015), sendo que as mutações TTRVal71Ala e TTRAsp38Tyr estão incluídas neste estudo.

1.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A ATTR é uma doença com padrão de herança autossômica dominante com grande variabilidade genotípica e fenotípica, provavelmente influenciada por fatores ambientais e epigenéticos não totalmente esclarecidos. Uma

mesma mutação TTR pode resultar em fenótipos distintos em indivíduos de diferentes regiões e, inclusive, em indivíduos pertencentes a uma mesma família (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011).

O quadro clínico inicia-se da segunda até a nona década de vida. A penetrância gênica é variável a depender da idade, da localização geográfica e da mutação TTR. Os estudos envolvendo a TTRVal30Met mostram que aos 50 anos, a penetrância é de 60% em Portugal e apenas de 11% na Suécia e 18% na França. Aos 80 anos, esta diferença diminui com penetrância próxima de 85% em Portugal, na França e no Brasil e de 65% na Suécia. Ainda, existem evidências sugerindo que as mulheres acometidas pela ATTR transmitem a doença para seus filhos com maior penetrância que os homens (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011; ANDO, 2013). A penetrância incompleta da doença pode ser responsável por casos esporádicos, sem familiares reconhecidamente acometidos (CONCEIÇÃO, 2016).

O fenômeno de antecipação gênica, em que as sucessivas gerações manifestam a doença de forma mais grave e em idade mais precoce, é, em geral descrita apenas em regiões endêmicas e ocorre com maior probabilidade na prole que herdou a ATTR do pai, comparada com a herança materna (ANDO, 2013, OBICI, 2016).

O acometimento do sistema nervoso periférico e do coração são os mais frequentes, sendo a PAF-TTR e a FAC-TTR os dois principais fenótipos. Segue em frequência bem menor, o envolvimento das leptomeninges e dos olhos (Amiloidose (óculo)leptomenígea familiar). As manifestações renais são raras, comparadas às amiloidoses sistêmicas não hereditárias (SEKIJIMA, 2015).

1.5.1. ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

A FAP-TTR é o fenótipo mais comum da ATTR e apresenta-se clinicamente como uma neuropatia sensitivo-motora axonal e comprimento-dependente, associada a uma neuropatia autonômica, em geral comprometendo inicialmente as fibras finas. Os depósitos amilóides são encontrados no endoneuro e subperineuro dos nervos periféricos e no interstício dos gânglios autonômicos e da raiz dorsal da medula espinhal, gerando degeneração dos axônios e neurônios (Ikeda, 2002).

Classicamente, a apresentação inicial é uma neuropatia sensitiva de fibras finas (BENSON, 2007). Os sintomas começam com um desconforto nos pés, caracterizado como dormência ou dor neuropática. As dores neuropáticas, geralmente são do tipo queimação, piores durante a noite e acompanhada de alodínia. Ao exame clínico, detecta-se hipoestesia térmica e dolorosa nos pés, com preservação da sensibilidade tátil superficial e da propriocepção. A força muscular e os reflexos osteotendíneos são normais. Esta dissociação do acometimento sensitivo, envolvendo apenas as modalidades térmica e dolorosa, é característica e aponta para um envolvimento preferencial das fibras não mielínicas e fibras mielínicas finas.

Dentro de alguns meses, há extensão do envolvimento sensitivo para a porções mais proximais dos membros inferiores, já sendo observadas alterações da sensibilidade tátil e propriocepção, além de fraqueza, nas porções mais distais dos membros inferiores, o que indica o envolvimento das

fibras mielínicas grossas. Proximalmente, ainda se observa um envolvimento preferencial das modalidades superficiais da sensibilidade (térmica e dolorosa).

A doença continua progredindo ao longo dos próximos anos, com alterações da sensibilidade alcançando progressivamente as coxas, os dedos das mãos, antebraços e tronco anterior, acompanhados de fraqueza distal também de gravidade crescente. O envolvimento dos membros superiores usualmente ocorre em 4 a 5 anos após o início dos primeiros sintomas. A deambulação fica difícil pelo desequilíbrio e pelos pés caídos, com restrição gradual até a necessidade do uso de cadeira de rodas.

Na fase mais inicial da instalação da FAP-TTR, a perda da sensibilidade dolorosa distalmente nos membros inferiores, com relativa preservação da força, aumenta o risco úlceras plantares e osteoartropatia (Articulação de Charcot) (SAID & PLANTÉ-BORDENEUVE, 2012).

Devido a distribuição randômica no sistema nervoso periférico, os depósitos amilóides podem se acumular em um local específico, causando lesão focal de nervo periférico e/ou nervo craniano e/ou plexo. A apresentação clínica mais comum destas lesões focais é a síndrome do túnel do carpo, geralmente com aparecimento precoce no quadro da ATTR, bilateral, mais grave e com menor resposta a cirurgia para descompressão, quando comparada as formas idiopáticas (SAID & PLANTÉ-BORDENEUVE, 2012).

A neuropatia autonômica acompanha a instalação da neuropatia sensitiva e, menos frequentemente, pode precedê-la. Os sistemas gastrointestinal, cardiovascular e genitourinário podem ser afetados nestes pacientes. Os sintomas gastrointestinais incluem diarreia pós-prandial

episódica, constipação, ou tipicamente diarreia alternada com constipação; pode haver ainda gastroparesia, com vômitos pós-prandiais e recorrentes, anorexia e saciedade precoce. A disautonomia cardiovascular acarreta hipotensão postural assintomática ou manifesta com tontura, fadiga e embaçamento visual após levantar-se. Nos homens, a disfunção sexual pode ser precoce. As alterações urinárias citadas são incontinência ou retenção urinária e disúria. Anormalidades da sudorese são incomuns. Acompanhando o quadro de disautonomia, ao longo da evolução, o paciente apresenta perda sustentada de peso, que não pode ser explicada tão somente pelos sintomas gastrointestinais (Adams,2001; Planté-Bordeneuve,2011).

A principal mutação responsável pelo fenótipo FAP-TTR é a TTRVal30Met, que apresenta uma descrição fenotípica mais detalhada e estudada até o momento. As mutações TTRLeu58His, TTRIle84Ser e TTRTyr114His podem ter como quadro inaugural uma neuropatia com início em membros superiores, como uma síndrome do túnel do carpo.

1.5.2. ACOMETIMENTO CARDÍACO

As manifestações cardiovasculares são decorrentes da infiltração de todas as estruturas do sistema cardiovascular (ANDO, 2013). O envolvimento do sistema de condução resulta em bloqueios de ramo, bloqueio átrio-ventricular e bloqueio sinoatrial. A infiltração do miocárdio aumenta progressivamente a espessura das paredes ventriculares e do septo

interventricular, levando a um padrão hipertrófico e restritivo. Inicialmente a fração de ejeção do ventrículo esquerdo é normal ou apenas levemente reduzido. Associadamente pode haver espessamento difuso ou nodular das válvulas cardíacas com variados graus de regurgitação valvar (ANDO, 2013).

Clinicamente, o paciente pode ser assintomático, com a identificação da arritmia e/ou cardiomiopatia por exames complementares (por ex.: ECG, ecocardiografia), ou apresentar-se com síncope, hipotensão postural, insuficiência cardíaca rapidamente progressiva ou até com morte súbita (ANDO, 2013, SEKIJIMA, 2015)

A FAC-TTR tende a ser mais comum entre homens com não-TTRVal30Met de início tardio, comparado com mulheres com não-TTRVal30Met de início tardio (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011).

A mutação mais comumente responsável por este fenótipo é a TTRVal122Ile, prevalente entre afro-americanos e responsável por uma cardiomiopatia amiloide de início tardio, geralmente após os 60 anos. Outras mutações responsáveis pela FAC-TTR incluem TTRSer50Ile, TTRThr60Ala, TTRIle68Leu e TTRLeu111Met (SEKIJIMA, 2012; S,2015).

1.5.3. ACOMETIMENTO LEPTOMENÍGEO E OCULAR

Acredita-se que os locais de produção da TTR que originam os depósitos amilóides no sistema nervoso central e nos olhos são o plexo coroide e o epitélio pigmentar da retina, respectivamente, motivo pelo qual pode haver

progressão dos sintomas relacionados ao sistema nervoso central e oculares mesmo após o tratamento com transplante ortotópico de fígado (Sekijima,2015).

No sistema nervoso central, os depósitos amilóides são encontrados nas camadas média e adventícia das artérias de pequeno e médio calibres, arteríolas, veias corticais e nas leptomeninges. As manifestações clínicas resultantes deste envolvimento são infarto e hemorragia cerebrais, hidrocefalia, convulsão, demência, paraparesia espástica e ataxia. As mutações TTR que reconhecidamente geram este fenótipo são TTRAsp18Gly, TTRAla25Thr e TTR Tyr114Cys (ANDO, 2013, SEKIJIMA, 2015).

O acometimento ocular inclui opacidades vítreas, glaucoma, angiopatia ocular amiloide, olho seco e alterações pupilares (pupilas discóricas - *scalloped pupils*, e reação pupilar com dissociação luz-perto – síndrome de *Argyll-Robertson*). Sua ocorrência é frequente na maioria das ATTR durante o curso da doença (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011).

1.5.4. CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA-FENOTÍPICA DA FAP-TTRVAL30MET

A FAP-TTRVal30Met é o protótipo da ATTR e em seu quadro clínico predomina o acometimento do sistema nervoso periférico, com uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica, associado ao envolvimento, em menor

proporção, de outros órgãos, como o coração, mais frequentemente, seguido pelos olhos e os rins.

Os pacientes com FAP-TTRVal30Met são classificados em dois grupos pela idade do início dos sintomas: de início precoce, com primeiros sintomas antes dos 50 anos de idade, e de início tardio, começando o quadro clínico após os 50 anos.

A FAP-TTRVal30Met de início precoce é vista nas áreas endêmicas da doença em Portugal e no Japão, com média de idade de 33 anos, tem alta taxa de penetrância, de maneira que os pacientes geralmente têm história familiar positiva, e podendo haver o fenômeno de antecipação. Clinicamente predomina a clássica neuropatia de fibras finas, com a dissociação da sensibilidade, e marcada disfunção autonômica, incluindo hipotensão postural, alterações do ritmo intestinal, bexiga neurogênica e disfunção sexual. O envolvimento cardíaco se dá por alteração da condução cardíaca, como por exemplo o bloqueio de condução atrio-ventricular, por vezes requerendo implantação de marcapasso. A doença progride continuamente até o óbito em 10 a 15 anos, por caquexia, infecções urinárias de repetição ou insuficiência cardíaca (ANDO,2013; SEKIJIMA, 2015).

Em contrapartida, a FAP-TTRVal30Met de início tardio ocorre nas áreas endêmicas da Suécia e nas áreas não-endêmicas, com idade média de início dos sintomas de 56 anos na Suécia e um nítido predomínio do sexo masculino (10:1). Como a penetrância é baixa, podem se apresentar como casos aparentemente esporádicos. A história familiar está presente em apenas um terço dos casos. Desde o início do quadro clínico, há a perda de todas as modalidades sensitivas e a fraqueza distal em membros inferiores é notada

precocemente. A disautonomia é relativamente leve e a cardiomiopatia amiloide é comum (SAID & PLANTÉ-BORDENEUVE, 2012; ANDO, 2013; SEKIJIMA, 2015).

Koike et al (2004) estudou 11 pacientes com FAP-TTRVal30Met de início precoce e 11 de início tardio e encontrou uma correlação entre os achados patológicos de biópsia do nervo sural e de autópsia e os diferentes aspectos do quadro clínico nos dois grupos. Os pacientes de início precoce apresentavam perda preferencial de fibras finas, enquanto o número total de fibras mielínicas estava mais gravemente reduzido e associado a brotamento axonal nos de início tardio. Estes achados vão ao encontro com a perda preferencial das sensibilidades térmica e dolorosas e o envolvimento precoce de todas as modalidades sensitivas na FAP-TTRVal30Met de início precoce e tardio, respectivamente. Os depósitos amilóides e a perda neuronal nos gânglios simpáticos eram mais graves, comparados com os gânglios sensitivos, nos pacientes de início precoce, se correlacionando com a maior gravidade da disautonomia nestes pacientes. Os pacientes com início precoce possuíam depósitos amilóides e atrofia das células miocárdica no átrio e na camada subendocárdica do miocárdio, onde o sistema de condução está localizado, explicando a maior ocorrência de alterações da condução cardíaca e necessidade de marcapasso nestes pacientes. Em contrapartida, havia deposição do material amiloide difusamente no miocárdio, com espessamento da parede ventricular, justificando a cardiomiopatia hipertrófica, encontrada nos pacientes com início tardio da doença (KOIKE, 2004).

As causas do envolvimento diferente em pacientes com a mesma mutação não foram identificadas, mas estudos histopatológicos demonstraram

que, apesar de haver grande brotamento e regeneração das fibras nervosas, os depósitos amilóides eram escassos nas biópsias de nervo sural dos pacientes com FAP-TTRVal30Met de início tardio, indicando que a degeneração axonal havia ocorrido antes da deposição do material amiloide. Adicionalmente, os materiais amorfos presentes nas biópsias coravam pela imunohistoquímica com anticorpos anti-TTR, mas não pela coloração vermelho do Congo, o que indicava a presença da TTR depositada sob a sua forma não fibrilar e de baixo peso molecular. Estes dois achados, em conjunto, corroboram a hipótese que a TTR não fibrilar teria uma ação citotóxica sobre as axônios e neurônios de todos os tamanhos antes da formação dos depósitos amilóides, com correspondência da apresentação clínica da forma tardia da doença. Já nas formas de início precoce, a presença dos depósitos amilóides extensa e precocemente, causaria um dano mecânico com perda preferencial das fibras de menor calibre (KOIKE, 2004).

Em virtude do grande número de mutações não-TTRVal30Met descritas até o momento e da variabilidade genotípica-fenotípica, não é possível uma caracterização uniforme de suas apresentações clínicas. Sabe-se, no entanto, que o seu início tende a ser mais tardio, a neuropatia sensitivo-motora assemelha-se a da TTRVal30Met de início tardio, com envolvimento de todas as modalidades sensitivas desde o início do quadro e com disautonomia de menor gravidade, e é frequente a presença de cardiomiopatia amiloidótica (IKEDA, 2003).

1.6. DIAGNÓSTICO

A ATTR é uma doença heterogênea, associada a uma grande variedade de manifestações clínicas, que podem estar presentes em graus variados e em diferentes combinações. Frequentemente, a presença de uma polineuropatia sensitivo-motora e autonômica progressiva é um achado marcante. Ainda assim, seu diagnóstico é postergado, visto que seus achados são inespecíficos e muito variáveis, inicia-se num intervalo de faixa etária da segunda até a nona década de vida e os casos podem ser aparentemente esporádicos. O diagnóstico de FAP-TTR deve ser considerado na presença de uma polineuropatia sensitivo-motora associado a pelo menos um dos seguintes: história familiar de neuropatia, disfunção autonômica precoce, envolvimento cardíaco, diarreia ou constipação ou alternância de diarreia com constipação, perda inexplicável de peso, síndrome do túnel do carpo, envolvimento renal ou opacidades vítreas. Uma doença rapidamente progressiva e a falência de resposta ao tratamento com imunossupressores também são sinais de alerta para a FAP-TTR (CONCEIÇÃO, 2016).

1.6.1. INVESTIGAÇÃO DA NEUROPATIA

A investigação da neuropatia sensitivo-motora e autônômica que, na maioria das vezes, apresenta-se como a manifestação inicial da ATTR deve incluir a eletroneuromiografia (ENMG) e testes neurofisiológicos para avaliação de neuropatia de fibras finas.

A eletroneuromiografia explora apenas o envolvimento das fibras nervosas mielínicas grossas, que são responsáveis pelas sensibilidades tátil e vibratória, propriocepção e movimento. O padrão mais frequente da FAP-TTR é uma neuropatia sensitivo-motora, de predomínio sensitivo, simétrica e axonal. Inicialmente, as amplitudes dos potenciais de ação sensitivo dos membros inferiores estão no limite inferior da normalidade e, à medida que a doença avança, seus valores diminuem até não serem mais detectados. Segue-se, a redução dos PAS dos membros superiores e a redução dos potenciais de ação musculares compostos (PAMC) dos membros inferiores (PAMC). Pode haver pequenas reduções das velocidades de condução e prolongamento da latência distal. Quando está presente apenas a neuropatia de fibras finas, a ENMG tende a ser normal (KOIKE, 2008; PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011; ANDO, 2013).

Um estudo comparativo entre pacientes com FAP-TTRVal30Met de início precoce e de início tardio demonstrou aspectos eletrofisiológicos diferentes entre os grupos. Os pacientes com início tardio tendem a apresentar uma maior redução do PAMC e, principalmente, dos PAS e um envolvimento predominante dos membros inferiores quando comparados com os pacientes de início precoce. Além disso, nos pacientes com início precoce foi encontrada uma correlação direta entre o agravamento dos parâmetros neurofisiológicos com o aumento da duração da doença, fato que não foi observado nos

pacientes de início tardio, que já apresentavam parâmetros mais graves desde o início da doença. O achado de que alguns pacientes com FAP-TTRVal30Met tinham redução da velocidade de condução e prolongamento da latência distal reforçou a ideia de que a presença de sinais de desmielinização na ENMG não afasta a possibilidade da doença (KOIKE, 2008).

Nos pacientes que clinicamente se apresentam com uma neuropatia de fibras finas devem ser realizados testes adicionais para avaliação das fibras não miélicas e miélicas finas, uma vez que a ENMG é normal. Dentre eles estão o QST, o potencial evocado por laser, a resposta simpática da pele, medida da condutância eletroquímica da pele com o SUDOSCAN® e a frequência cardíaca na respiração profunda. Tratam-se de testes que individualmente tem uma especificidade elevada, com sensibilidade baixa, sugerindo-se a realização de uma bateria deles nos pacientes que se enquadram na neuropatia de fibras finas para aumentar a sensibilidade diagnóstica (CONCEIÇÃO, 2014; LEFAUCHEUR, 2015).

1.6.2. INVESTIGAÇÃO DO ACOMETIMENTO CARDÍACO

A avaliação cardíaca tem como objetivo a detecção e caracterização da gravidade das alterações da condução cardíaca, com ECG de 12 derivações e Holter ECG, e da cardiomiopatia amiloidótica, com biomarcadores (peptídeo natriurético tipo B e troponina) e ecocardiografia bidimensional. Em casos selecionados, podem ainda ser realizados o estudo eletrofisiológico

intracardíaco, a RNM cardíaca e a cintilografia com traçadores ósseos (ANDO, 2013; ADAMS,2016). Na grande maioria das vezes os achados não são específicos para cardiomiopatia da ATTR.

No ECG pode estar presente um complexo QRS de baixa voltagem, caracterizado por uma amplitude do QRS $\leq 0,5\text{mV}$ em todas as derivações dos membros ou $\leq 1\text{mV}$ em todas as derivações precordiais. Outras alterações comuns são alterações de repolarização, padrões de pseudoinfarto anterior, inferior ou lateral, hemibloqueio anterior esquerdo, bloqueio de ramo, alterações inespecíficas ou de padrão isquêmico das ondas T e arritmias (ANDO, 2013; ADAMS,2016).

A ecocardiografia é o principal método não invasivo para o diagnóstico da cardiomiopatia amiloidótica, caracterizada por um padrão restritivo com disfunção diastólica. Os ventrículos esquerdos usualmente não estão dilatados e sua fração de ejeção é normal ou pouco reduzida, associada a uma função no eixo radial normal e função no eixo longitudinal deprimida. Os achados que sugerem a sua presença são a espessura do septo interventricular no final da diástole $> 1,2\text{cm}$ na ausência de outra causa para hipertrofia cardíaca, associado a dois ou mais dos seguintes: espessamento homogêneo da valva atrioventricular, espessamento do septo atrial, septo ventricular com aspecto salpicado. Efusão pericárdica também é comum (ANDO, 2013).

O achado mais específico não invasivo para o diagnóstico de cardiopatia amiloidótica é um ECG com baixa voltagem associado a parede ventricular esquerda espessada na região septal e posterior. Entretanto, ele não é específico para a cardiomiopatia TTR, podendo estar presentes nas amiloidoses não hereditárias.

A RNM cardíaca também pode ser útil na identificação precoce da cardiomiopatia amiloidótica, com a presença de alterações específicas da cinética do gadolínio: lavagem mais rápida do que o normal do gadolínio do sangue e do miocárdio e o efeito de contraste tardio, difuso e global, do subendocárdio. A cintilografia cardíaca com MIBG avalia indiretamente a presença de depósitos amilóides pelo acometimento das terminações nervosas simpáticas cardíacas e pode ser usado como uma ferramenta prognóstica nos pacientes com ATTR. Por fim, a cintilografia miocárdica com traçadores com avidéz pela TTR, como o ^{99m}Tc -DPD, tem se mostrado superior aos demais na detecção da cardiopatia TTR e diferenciação das demais etiologias da cardiopatia amiloidótica (ANDO, 2013).

1.6.3. INVESTIGAÇÃO DE OUTROS ÓRGÃOS

Os pacientes devem passar por uma avaliação oftalmológica para a pesquisa de manifestações oculares da ATTR e por uma monitorização da função renal com pesquisa de proteinúria. O estado nutricional é avaliado pelo índice de massa corpórea modificado (IMCm), que é calculado pela multiplicação do IMC pelo nível sérico da albumina para compensar a presença de edema) (ADAMS, 2016).

1.6.4. DIAGNÓSTICO DE ATTR

O diagnóstico definitivo da ATTR é feito pela biópsia tecidual, com a demonstração de depósitos amilóides extracelulares, e pelo teste genético, que permite a identificação uma mutação TTR amiloidogênica.

Em pacientes provenientes de áreas endêmicas ou com história familiar positiva, que habitualmente tem apresentação clínica de início precoce com neuropatia de fibras finas com disautonomia, a biópsia tecidual não é mandatória. O diagnóstico pode ser feito pelo teste genético com a confirmação presença da mutação TTR amiloidogênica. Por outro lado, em pacientes com doença de início tardio, aparentemente esporádicos e pertencentes a áreas não endêmicas, a identificação dos depósitos amilóides pela biópsia é fundamental e deve ser seguida pelo teste genético (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011; ANDO, 2013).

A biópsia pode ser realizada em inúmeros tecidos, como tecido adiposo subcutâneo da parede abdominal, glândula salivar labial, trato gastrointestinal, pele, nervo sural, retináculo e gordura peritendínea obtida na cirurgia para síndrome do túnel do carpo e em outros órgãos acometidos, como o rim e o coração. O sítio biopsiado varia entre os centros de referência em amiloidose, sendo dependente da experiência da equipe médica local. Segundo os membros do *European Network for TTR-FAP (ATTRReuNET)* os locais-alvo mais frequentes são o tecido adiposo abdominal e a mucosa retal, com sensibilidade variando de 14-83% para a biópsia do tecido adiposo abdominal, seguidos pelo nervo sural e glândula salivar, com sensibilidade de 79-80% e

de 91% (este último para TTRVal30Met de início precoce), respectivamente. Deve-se ter em mente, que uma biópsia negativa não excluiu o diagnóstico de amiloidose, o que é justificado pelo acúmulo focal e randômico da substância amilóide (ADAMS, 2012; ADAMS, 2016).

A confirmação dos depósitos amilóides é feito pela coloração com vermelho do Congo ou tioflavina T, que mostra uma birrefringência verde característica sob a luz polarizada. A microscopia eletrônica evidencia a natureza fibrilar não ramificada da substância amiloide com diâmetro de 10 nm. Por estes métodos não é possível identificar o tipo específico da proteína precursora, o que pode ser feito pela imunohistoquímica com anticorpo anti-TTR.

A confirmação da ATTR ainda requer que a transtiretina identificada esteja na forma variante (ATTR hereditária) e não na sua forma selvagem (ATTR não hereditária). Para isso, nos locais onde está disponível, a espectroscopia de massa pode demonstrar a presença de um TTR variante em 90% dos casos, pela diferença de massa em relação a TTR selvagem, mas sem especificar o local e o tipo da mutação de ponto.

Por fim, o estudo genético é imprescindível para a definição da mutação da TTR. Um estudo direcionado para a identificação de uma mutação específica pode ser usado em casos pertencentes a família com sua mutação já conhecida. Nos demais casos, recomenda-se a realização do sequenciamento gênico do gene TTR (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011, ANDO, 2013, ADAMS, 2016)

1.6.5. AVALIAÇÃO DOS FAMILIARES ASSINTOMÁTICOS SOB RISCO DE ATTR

A ATTR é uma doença autossômica dominante multissistêmica com evolução progressiva, para qual o transplante autólogo de fígado e os novos tratamentos propostos tem efetividade demonstrada apenas na fase inicial da doença. Além disso, estas terapias disponíveis têm como objetivo evitar ou reduzir a progressão dos déficits, não havendo efeito sob o prejuízo estrutural e funcional já instalado. Dessa maneira, o aconselhamento genético com o teste genético pré-sintomático do gene TTR, seguido de um acompanhamento periódico, para os familiares dos pacientes sob risco de ter ATTR permite o reconhecimento precoce dos sintomas e início imediato de um tratamento apropriado. Além disso, possibilita um planejamento pessoal e familiar, incluindo diagnóstico pré-natal ou pré-implantação, em locais onde é permitido por lei e onde estão disponíveis. Entretanto, o resultado positivo no teste pode ter um impacto psicológico substancial, que também deve ser levado em consideração (ANDO, 2013; OBICI, 2016).

O aconselhamento genético deve ser oferecido apenas para maiores de 18 anos e o teste genético pré-sintomático deve ser um desejo explícito do paciente. Deve ser feito por uma equipe multidisciplinar, incluindo um neurologista, médico geneticista e psiquiatra ou psicólogo, com pelo menos uma avaliação feita antes do exame, seguido de um acompanhamento regular para pesquisar sinais e sintomas da doença e para oferecer suporte psicológico, quando necessário.

Uma vez identificados portadores assintomáticos de uma mutação TTR, recomenda-se um seguimento pelo menos anual, com investigação de 5 áreas: história clínica e exame físico (incluindo NIS e IMCm); exame sensitivo-motor (eletroneuromiografia, resposta simpática da pele e QST); exames cardiológicos (ECG, ecocardiografia, biomarcadores, avaliação de desnervação cardíaca); exames de função renal (microalbuminúria) e avaliação autonômica (reposta da frequência cardíaca, avaliação gastrointestinal, teste da sudorese e disfunção erétil). A frequência das reavaliações pode ser ajustada de acordo com a idade do paciente, com a idade de início da doença na família, com o risco de antecipação genética e com o tipo de mutação TTR (OBICI, 2016).

Segundo as recomendações da *European Network for TTR-FAP* (ATTReuNET), o diagnóstico de ATTR deve ser considerado em pacientes previamente assintomáticos na presença de dois de três: sintomas relatados pelo paciente e/ou mudanças em relação aos parâmetros de avaliação iniciais e/ou indicadores de envolvimento cardíaco. Neste caso, realiza-se a biópsia demonstrando a presença de depósitos amilóides e confirmação da ATTR.

1.6.6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico de ATTR é um desafio principalmente nos casos aparentemente esporádicos, ou porque uma determinada mutação apresenta baixa penetrância, ou o seu início é tardio e não se manifestou nos familiares

que faleceram precocemente uma causa não correlacionada, ou, mais raramente, por uma mutação *de novo*.

Condições comórbidas, como o diabetes mellitus e o alcoolismo crônico, podem causar uma neuropatia predominante de fibras finas e autonômica, inicialmente muito similar a FAP-TTR.

A amiloidose não hereditária, especialmente a amiloidose de cadeias leves (AL), frequentemente é considerada dentre os diagnósticos diferenciais da FAP-TTR, uma vez que a gamopatia monoclonal tem alta incidência na população mais idosa. O uso da imunohistoquímica do material amiloide para identificação da proteína precursora, a transtiretina no caso da FAP-TTR, permite esta diferenciação, entretanto ela pode dar resultados falso positivos para a presença de cadeias leve de imunoglobulina, causando confusão diagnóstica (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2007; ADAMS, 2012).

O diagnóstico diferencial mais comum para as formas esporádicas de FAP-TTR é a polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC). No PIDC, há o envolvimento preferencial das fibras mielínicas grossas, com redução da velocidade de condução mais acentuada, hiperproteínoorraquia e não há sinais/sintomas de disfunção autonômica. Em casos, mais avançados a perda axonal pode predominar. Já na FAP-TTR, a velocidade de condução é pouco reduzida, mas a proteínoorraquia pode estar elevada e a biópsia tecidual pode não demonstrar a presença de material amiloide. Deve-se ter uma alta suspeição para TTR-FAP nos pacientes diagnosticados como PIDC, mas que não estão respondendo ao tratamento imunomodulador (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2007; CONCEIÇÃO, 2016).

1.7. TRATAMENTO

A ATTR é uma doença multissistêmica com progressão inexorável pelo acúmulo gradual de depósitos amilóides nos órgãos e tecidos com danos estruturais e disfunções irreversíveis, resultando em neuropatia, cardiomiopatia, nefropatia, lesão ocular e de sistema nervoso central, além de outros menos frequentes. Desta forma, as estratégias terapêuticas devem ser instituídas precocemente no curso da doença, visando evitar a formação dos depósitos amilóides e a instalação de déficits permanentes.

As terapias estabelecidas e aquelas ainda em estudo atuam bloqueando diferentes etapas da formação das fibrilas amilóides de TTR. O transplante ortotópico de fígado (TOF), considerado a terapia padrão para FAP-TTR, substitui a produção hepática de TTR variante por TTR selvagem, reduzindo rapidamente a concentração sérica da TTR variante, já que fígado é o sítio principal de produção da TTR sérica. Os estabilizadores de tetrâmeros de TTR, tafamidis e diflunisal, já são terapias aprovadas para o tratamento da FAP-TTR e reduz o potencial amiloidogênico da TTR variante através da ligação de uma pequena molécula estabilizadora do tetrâmero de TTR. As terapias gênicas, os oligonucleotídeos antisense e os SiRNA (small interfering RNAs), agem reduzindo a produção da TTR, tanto variante quanto selvagem, pelo silenciamento genético; estas terapias ainda não tiveram sua eficácia comprovada e seus estudos estão em andamento. Finalmente, estão sendo estudados terapias que promovem a degradação dos agregados de TTR e das

fibrilas amilóides (doxiciclina + ácido tauroursodeóxicólico e terapia imunológica) (SEKIJIMA, 2016).

As estratégias terapêuticas atualmente disponíveis têm sua eficácia comprovada para o tratamento do fenótipo FAP-TTR, estando indicadas para pacientes em estágios iniciais da doença. A classificação do estágio da FAP-TTR pode ser feita por dois escores diferentes (ANDO, 2013; ADAMS, 2016):

1- Estadimento clínico da FAP-TTR:

Estágio 0: assintomático

Estágio 1: leve; capaz de deambular; sintomas limitados aos membros inferiores

Estágio 2: moderado; capaz de demabular, mas necessita de assistência

Estágio 3: grave; restrito a cadeira de rodas ou ao leito, com fraqueza generalizada

2- Escore de incapacidade da polineuropatia (PND: PolyNeuropathy Disability score):

I: alterações sensitivas nas extremidades, mas capaz de deambular (correspondência com estágio 1)

II: dificuldades para deambular, mas ainda não necessita de auxílio (correspondência com estágio 1)

IIIa: demabula com apoio unilateral (correspondência com estágio 2)

IIIb: demabula com apoio bilateral (correspondência com estágio 2)

IV: restrito a cadeira de rodas ou ao leito (correspondência com estágio 3).

1.7.1. TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO

O TOF foi o primeiro tratamento instituído para a FAP-TTR, inicialmente realizado em 1990, na Suécia, e, por aproximadamente duas décadas, permaneceu como o único disponível (SEKEJIMA, 2015). Atualmente, após a comprovação da eficácia do tafamidis para FAP-TTR no estágio I e com o vislumbre de terapias de silenciamento gênico que aguardam comprovação, o transplante é considerado terapia padrão preferencialmente para os pacientes com FAP-TTRVal30Met de início precoce (ERICZON, 2015).

O transplante substitui a produção da TTR variante pela TTR selvagem, já que o fígado é o principal sítio de produção da TTR plasmática. Como consequência, há uma redução de 95% da produção da TTR variante, com uma queda rápida de sua concentração sérica após o procedimento (ANDO, 2013). Na grande maioria dos países, utiliza-se o fígado proveniente de doadores cadáveres, entretanto no Japão o tecido hepático de doadores vivos é mais frequentemente utilizado (ANDO, 2013).

Os efeitos do transplante hepático na neuropatia são evidentes, uma vez que há uma interrupção da progressão dos sinais e sintomas da neuropatia sensitivo-motora e autonômica, e até mesmo, em alguns pacientes, observa-se alguma melhora dos distúrbios autonômicos (ANDO, 2013, SEKEJIMA, 2015). Em contrapartida, este tratamento não previne a progressão da cardiomiopatia, porque a TTR selvagem, que continua a ser produzida pelo fígado transplantado, se deposita nos depósitos amilóides pré-existentes no tecido cardíaco. A progressão da cardiomiopatia é mais evidente

nos pacientes com TTRVal30Met de início tardio e não-TTRVal30Met, fato que contribui para o prognóstico menos favorável do transplante hepático nesses grupos. O aparecimento ou evolução do envolvimento ocular e, menos frequentemente, do sistema nervoso central também é evidente após o TOF, considerando que a síntese da TTR variante permanece intacta através do plexo coróide e do epitélio pigmentar da retina (ERICZON, 2015; ADAMS, 2016).

Os resultados do TOF para o tratamento de FAP-TTR foram avaliados por uma análise retrospectiva dos dados acumulados pelo Registro Mundial do Transplante para FAP (Familial Amyloidosis Polyneuropathy World Transplant Registry – FAPWTR) nos últimos 20 anos. Foram analisados um total de 1949 pacientes, dos quais 1379 estão vivos. O estudo mostrou uma sobrevida após 20 anos do TOF de 55,3%, incluídas todas as mutações TTR. A análise multivariada dos dados apontou que o início precoce da doença (<50 anos de idade), a presença da mutação TTRVal30Met versus a não TTRVal30Met, a duração da doença antes do TOF e o IMCm são fatores independentes que influenciam a sobrevida após o transplante. Os pacientes de início precoce da doença têm uma taxa de mortalidade esperada 38% menor que a taxa dos pacientes com início tardio ($p < 0,001$). Os pacientes com a mutação TTRVal30Met tem uma taxa de mortalidade esperada 61% menor que os com a não TTRVal30Met ($p < 0,001$). O risco de mortalidade aumenta em 11% a cada ano a mais de duração da doença antes do TOF ($p < 0,001$). Por fim, com relação ao IMCm, a cada aumento em 100 unidades no seu valor, o risco de mortalidade diminui em 89%. Com estes dados, considera-se que o TOF deve ser considerado para o tratamento na fase inicial da doença dos

pacientes com FAP-TTRVal30Met de início precoce, tendo em vista a alta taxa de sobrevida a longo prazo (ERICZON, 2015).

Outro dado relevante encontrado neste estudo por ERICZON et al. (2015) foi que houve um aumento aproximado de 20% na taxa de mortalidade anual dos pacientes FAP-TTRVal30Met de início precoce enquanto aguardavam o transplante. Este achado deve ser levado em consideração na decisão terapêutica deste grupo específico de pacientes, uma vez que o atraso no TOF pode acarretar um aumento significativo da mortalidade (ERICZON, 2015).

Na avaliação dos pacientes com FAP-TTR de início tardio, os pacientes do sexo masculino tiveram uma taxa de mortalidade 156,9% vezes àquela dos pacientes do sexo feminino ($p=0.014$). Este dado apontou para uma taxa de sobrevida para os pacientes do sexo masculino de início tardio transplantados que não foi diferente da taxa de sobrevida esperada para os não transplantados. As duas principais causas de óbito em todo o grupo avaliado no FAPWTR foram septicemia (22%) e relacionado a causas cardiovasculares (22%). As mortes relacionadas as causas cardíacas foram marcadamente mais frequentes nos pacientes transplantados para o tratamento de FAP-TTR do que por outras doenças (ERICZON, 2015).

O transplante combinado de fígado e coração e/ou rim pode ser realizado para pacientes com FAP-TTR que apresentam uma insuficiência cardíaca grave por cardiopatia amiloide ou insuficiência renal por nefropatia amiloide associados a um quadro neurológico inicial (ANDO, 2013). Os pacientes que são tratados com transplante combinado são, no geral, mais velhos e com a mutação não TTRVal30Met (ERICZON, 2015).

O transplante dominó de fígado, quando o fígado de um paciente com FAP-TTR é transplantado para um paciente com outra doença que preenche os critérios para indicação de TOF sem a disponibilidade em tempo hábil do órgão, encontra justificativa no fato do fígado na ATTR ser minimamente envolvido. Os pacientes selecionados geralmente são idosos, com câncer hepático, etilismo, etc., nos quais o risco de óbito é maior pela própria doença do que pela possibilidade de desenvolver ATTR ao receber um fígado com a mutação TTR. A ATTR nos pacientes com transplante dominó de fígado foi descrita nestes pacientes num tempo mais curto do que o inicialmente previsto. Por isso, estes pacientes necessitam de avaliação seriada para os sinais/sintomas da ATTR (ANDO, 2013; ERICZON, 2015).

1.7.2. ESTABILIZADORES DE TETRÂMERO DE TTR

Os estabilizadores de tetrâmero de TTR são agentes modificadores de doença capazes de estabilizar o tetrâmero de TTR através da ocupação dos sítios de ligação de T4, uma vez que a dissociação deste tetrâmero é uma etapa fundamental para a formação das fibrilas amilóides. Tafamidis e diflunisal são os dois agentes pertencentes a esta classe e tiveram sua eficácia comprovada em reduzir da taxa de progressão da FAP-TTR por estudos clínicos randomizados (ADAMS, 2014; HAWKINS, 2015)

1.7.2.1. TAFAMIDIS

Tafamidis atualmente é considerado a medicação de primeira linha para o tratamento de pacientes com FAP-TTR, no estágio FAP-TTR 1, independente da mutação TTR e da idade de início da doença. Desta forma, pode ser usada para pacientes TTRVal30Met de início precoce e tardio e para os não TTRVal30Met. Sua comercialização foi liberada na Europa, em 2011, além do México, da Argentina e do Japão, mas permanece não aprovada nos EUA (ADAMS, 2014; HAWKINS, 2015).

O estudo clínico fase III multicêntrico, randomizado e placebo-controlado, Fx-005, para avaliação do tafamidis 20mg/dia, via oral, por 18 meses, recrutou 128 pacientes e estabeleceu como desfechos primários a porcentagem de pacientes que não aumentaram em 2 pontos no NIS-LL (neuropathy impairment score in lower limbs) e a média da mudança, em relação ao basal do teste, de qualidade de vida TQOL (total quality of life). Os pacientes tinham uma média de idade de 39 anos, a maioria era de origem portuguesa, com doença de início recente e a doença em estágio inicial (média inicial do NIS-LL 4/88). Os resultados deste estudo não alcançaram significância estatística na análise do grupo *Intention to treat*, pela alta taxa de descontinuação, mas atingiu significância estatística na análise dos 87 pacientes que permaneceram no estudo. Não se observou progressão da neuropatia em 60% dos pacientes tratados, comparado com 38% do grupo placebo, e o teste de qualidade de vida também foi melhor no grupo de pacientes tratados ($p=0,045$). O estudo de extensão, aberto, de 12 meses, que

incluiu 86 pacientes, confirmou que a redução da taxa de progressão da neuropatia, avaliada pelo NIS-LL, foi sustentada por 30 meses (COELHO, 2012).

Enquanto o tafamidis pode reduzir a progressão da neuropatia nos pacientes TTRVal30Met de início precoce, o seu efeito parece ser menor no grupo de pacientes com TTRVal30Met de início tardio e não TTRVal30Met. Os pacientes com TTRVal30Met de início tardio foram analisados em um estudo prospectivo e unicêntrico, não randomizado e controlado, com inclusão de 37 pacientes com média de idade de 62,8anos, média do NIS-LL 34/88 e 77% com dificuldades para deambular. Em um ano, 93% dos pacientes pioram NIS (neuropathy impairment score) e/ou a incapacidade. Outro estudo prospectivo, aberto e com braço único de tratamento, foi realizado em 21 pacientes com não TTRVal30Met. O desfecho primário de estabilização bioquímica da TTR foi alcançado em 95% dos pacientes. Contudo, houve piora da função neurológica com um aumento médio no NIS de 5,3 pontos (HAWKINS,2015).

Tafamidis demonstrou-se uma medicação bem tolerada, tendo como efeitos adversos mais frequentes infecção de trato urinário e diarreia (ADAMS, 2014).

1.7.2.2. DIFLUNISAL

Diflunisal é um anti-inflamatório não esteroideal que demonstrou aumentar a estabilidade dos tetrâmeros de TTR in vitro e em indivíduos

saudáveis (HAWKINS, 2015). Seu uso off label tem sido relatado em pacientes com FAP-TTR estágios 1 e 2, mas esta medicação não está licenciada para uso no tratamento de FAP-TTR (HAWKINS, 2015; ADAMS, 2016).

Um estudo clínico fase III multicêntrico, randomizado e placebo-controlado com diflunisal 250mg, duas vezes ao dia, via oral, foi realizado para avaliar a eficácia desta medicação em modificar a progressão da neuropatia ao longo de 24 meses. Foram recrutados 130 pacientes, incluindo pacientes com doença mais avançada (apenas 37,7% da população com estágio PND 1), mutações TTRVal30Met e não TTRVal30Met e pacientes com início tardio (média de idade 59,7anos). Os pacientes tratados com diflunisal apresentam menor deterioração no NIS+7 (*neuropathy impairment score+7*), comparados com o grupo placebo, e uma maior proporção de pacientes com estabilidade neurológica (aumento menor que 2 pontos no NIS+7) em 2 anos (29,7% versus 9,4%). A limitação deste estudo deve-se a alta taxa de descontinuação, por progressão da doença e para tratamento com transplante ortotópico de fígado (BERK, 2013).

Diflunisal demonstrou-se uma medicação segura, entretanto o estudo fase II acima descrito excluiu os pacientes com insuficiência renal com clareance de creatinina menor que 30ml/min. Está contraindicado nos pacientes com alergia a anti-inflamatórios não esteroidais (ADAMS, 2014).

1.7.3. TERAPIAS GÊNICAS: SILENCIADORES DO GENE

TTR

As terapias silenciadoras da TTR, oligonucleotídeos antisense e SiRNA, são estratégias terapêuticas promissoras para o tratamento da FAP-TTR, cujos estudos clínicos fase III para FAP-TTR estão em fase final (Sekejima, 2016). O objetivo da inibição pós-transcricional da TTR é impedir a produção hepática tanto da TTR selvagem quanto variante, diferindo do transplante ortotópico de fígado que suprime apenas a produção da TTR variante, mantendo a produção da TTR selvagem pelo fígado transplantado (ADAM, 2014; HAWKINS, 2015).

1.7.3.1.OLIGONUCLEOTÍDEOS ANTISENSE

Os oligonucleotídeos antisense são pequenos oligonucleotídeos sintéticos que se ligam diretamente ao RNA mensageiro (RNAm) da TTR, levando a sua destruição pela RNAase, impedindo a produção da TTR (Hawkins, 2015).

O ISIS-TTRRx é o oligonucleotídeo antisense que está sendo estudado para o tratamento da FAP-TTR. O estudo fase I em voluntários saudáveis demonstrou uma boa tolerância até uma dose de 400mg e uma redução dos níveis de TTR sérica dose-dependente, com reduções de aproximadamente 80% após 4 semanas de tratamento com as doses de 300mg e 400mg.

O estudo clínico fase II/III, duplo cego, randomizado e placebo controlado (NCT01737398) para avaliação da segurança e eficácia do ISIS-TTRRx em pacientes com FAP-TTR iniciou em 2013 com previsão de término

em novembro de 2016. Foram recrutados 195 pacientes nos estágios I e II (excluindo os pacientes que necessitam de apoio bilateral para demabular), com NIS de 10-100, que serão randomizados para receber 300mg de ISIS-TTRRx, subcutâneo, 3x/semana na primeira semana, seguida de 1x/semana por 64 semanas. Os desfechos primários serão a mudanças em relação ao basal do mNIS+7 (modified NIS+7) do TQOL após 65 semanas de tratamento (ADAMS, 2014; Hawkins, 2015).

1.7.3.2. SiRNA

Os SiRNA são moléculas encapsuladas por formulações de nanopartículas de lipídios, que se ligam a uma sequência comum aos RNA das TTR selvagem e variante, impedido sua transcrição e resultando em sua degradação (ADAMS, 2014, HAWKINS, 2015).

O patisiran (ALN-TTR02), em estudo clínico fase I, demonstrou boa tolerabilidade e uma redução de 94% nos níveis séricos da TTR, em voluntários sadios (HAWKINS, 2015). O estudo fase II, aberto, com 29 pacientes com FAP-TTR nos estágios I e II, com várias mutações TTR (76% TTRVal30Met), avaliou a eficácia de múltiplas doses do patisiran e demonstrou que a máxima redução média dos níveis séricos da TTR foi de 87% nos pacientes que receberam a dose de 0,3mg/kg a cada 3 semanas, via endovenosa. Os efeitos colaterais foram, em sua maioria, relacionados à infusão, de leve a moderada intensidade. Estes pacientes foram eleitos para

permanecer na fase de extensão, que ainda está em andamento (NCT01961921). Análises preliminares demonstraram um efeito sustentando na redução dos níveis séricos de TTR (aproximadamente 80% por 16 meses) e estabilidade do quadro neurológico e cardíaco em 12 meses (HAWKINS, 2015).

O estudo clínico fase II/III, duplo cego, randomizado e placebo controlado (NCT01960348) do patisiran em pacientes com FAP-TTR está em andamento com previsão de término em maio de 2017. Foram recrutados 200 pacientes, independente da mutação TTR, com estágios I e II (excluídos os que necessitam de apoio bilateral para deambular e com NIS entre 5-130. A randomização foi na proporção de 2:1 para receber patisiran 0,3mg/kg a cada 3 semanas, endovenoso, ou placebo, por 18 meses. O desfecho primário estabelecido é a mudança, em relação ao basal, da pontuação do mNIS+7 (ADAMS, 2014; HAWKINS, 2015)

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Descrever a epidemiologia das mutações do gene TTR na PAF e correlacionar estas mutações com seus achados clínicos e eletroneuromiográficos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte, descritivo e retrospectivo de um grupo de pacientes encaminhados para investigação de neuropatia periférica, cujo estudo genético identificou uma mutação no gene TTR, com posterior análise transversal dos resultados obtidos entre os subgrupos com as diferentes mutações.

3.2. PACIENTES

Foram identificados os registros dos pacientes que tiveram uma mutação no gene TTR analisada no Laboratório de DNA, do Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental, do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP) no período de Julho de 1997 a Janeiro de 2016 e que preenchiam os critérios de inclusão do estudo.

Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo TTRMet30, que possuía a mutação TTR Val30Met e o grupo não TTRMet30, que possuía uma mutação diferente da mutação TTR Val30Met.

O grupo TTRMet30 foi dividido em dois subgrupos: grupo TTRMet30 de início precoce, cuja manifestação clínica inicial ocorreu antes dos 50 anos, e o grupo TTRMet30 de início tardio, com início aos 50 anos ou mais.

O grupo não TTRMet30 foi dividido em dois subgrupos: grupo não TTRMet30 patogênico, com mutação patogênica, e grupo não TTRMet30 não patogênico, com mutação não patogênica (polimorfismo não patogênico).

Os prontuários dos pacientes acima selecionados e que possuíam dados completos foram sistematicamente revisados.

3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo, os pacientes que preenchiam os seguintes critérios:

1. Ter uma mutação no gene TTR, identificado por sequenciamento deste gene, realizado neste centro;

O grupo de pacientes que tiveram seus prontuários revisados, visando a caracterização de seus quadros clínicos, foram aqueles que preenchiam o critério acima enumerado somado ao seguinte:

1. Prontuário devidamente preenchido com os dados clínicos e de exames complementares (ENMG e/ou ECG e/ou Holter e/ou ecocardiograma).

3.4. CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO

Não foram incluídos os indivíduos cujo sequenciamento completo do gene TTR não havia sido feito ou seu resultado não demonstrava uma mutação neste gene.

3.5. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA

Os pacientes que apresentavam a mutação no gene TTR e seus prontuários devidamente preenchidos tiveram as seguintes informações clínicas coletadas e consideradas nas análises estatísticas:

- a) Mutação no gene TTR
- b) Idade do início dos sintomas;
- c) Intervalo para diagnóstico;
- d) Sexo;
- e) Manifestação clínica inicial;
- f) Apresentação clínica na primeira consulta;
- g) Presença de sinais/sintomas sugestivos de disautonomia;
- h) História familiar para PAF-TTR;
- i) Tratamento com transplante ortotópico de fígado;

A manifestação clínica inicial foi considerada como o primeiro sintoma a ser percebido e relatado pelo paciente, sendo classificado como 1) sintoma sensitivo fibra fina (dor neuropática e/ou hipoestesia/anestesia térmica-dolorosa); 2) disautonomia, 3) sintoma motor (fraqueza e/ou sensação de cansaço nos membros inferiores e/ou atrofia), 4) sintoma sensitivo-motor; 5) outros (combinação dos sintomas acima ou acometimento cardíaco (arritmia).

A apresentação clínica na primeira consulta foi caracterizada quanto a presença de sinais/sintomas sensitivos de fibras finas e/ou sensitivos de fibras grossas e/ou motores e/ou disautonomia, observados na primeira consulta realizada neste serviço. De acordo com a combinação de sinais/sintomas observados na primeira consulta, os pacientes foram classificados em 7 grupos: 1) Neuropatia sensitivo-motora com disautonomia, quando apresentavam alterações sensitivas de fibras finas e grossas, alterações motoras e disautonomia; 2) Neuropatia sensitivo-motora sem disautonomia, quando apresentavam as mesmas alterações anteriores, excetuando-se a disautonomia; 3) Neuropatia de fibras finas sem disautonomia, quando apresentavam alterações de fibras finas com disautonomia; 4) Neuropatia de fibras finas com disautonomia, quando apresentavam alterações de fibras finas sem disautonomia; 5) Neuropatia sensitiva com disautonomia, quando apresentava, alterações sensitivas de fibras finas e grossas, com disautonomia; 6) Neuropatia autonômica, quando apresentavam apenas disautonomia e 7) Outros, quando não se enquadravam em nenhuma das anteriores.

Todos os pacientes foram examinados ou tiveram o exame neurológico supervisionado pelo mesmo examinador (Wilson Marques Júnior). Visando

avaliar o acometimento sensitivo de fibras finas, revisou-se o exame da sensibilidade dolorosa, que foi testada com alfinete de fraldas, sendo pedido ao paciente que identificasse a presença de dor, em oposição à sensação de toque ou batida. O acometimento sensitivo de fibras grossas foi registrado pela avaliação da sensibilidade tátil, testada com gaze ou algodão, e da sensibilidade vibratória, realizada com um diapásio de 128Hz colocado nas extremidades ósseas dos membros superiores e inferiores. O acometimento motor foi caracterizado pela presença de um ou mais grupos musculares com uma pontuação menor ou igual a 4 na escala de MRC (Medical Research Council).

Definiu-se a existência de disautonomia por dados obtidos na história clínica e/ou no exame físico, que demonstravam a presença de um ou mais dos seguintes: 1) perda de peso; 2) alteração do hábito intestinal (diarreia, constipação ou diarreia alternada com constipação); 3) vômitos; 4) plenitude gástrica; 5) disfunção urinária; 6) disfunção sexual; 7) sudorese; 8) hipotensão postural; 9) disfagia. A hipotensão postural foi definida como a detecção de queda da pressão arterial sistólica maior ou igual a 20mmHg e queda da pressão arterial diastólica maior ou igual a 10mmHg, quando esta foi aferida na posição deitada, seguida da posição sentada ou em pé.

Os pacientes que relataram a existência de familiares com diagnóstico conhecido de PAF-TTR ou familiares com quadro clínico sugestivo de uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica rapidamente progressiva foram considerados com tendo história familiar positiva.

Por fim, registrou-se a evolução dos pacientes que foram tratados com o transplante ortotópico de fígado.

3.6. ANÁLISE GENÉTICA DO GENE TTR

O estudo genético para o sequenciamento do gene TTR foi feito partir de sangue coletado utilizando-se o sistema de coleta a vácuo com o anticoagulante EDTA. O DNA genômico foi extraído das células brancas seguindo as recomendações descritas pelo fabricante *Pure Gene* (Gentra). Selecionou-se os *primers* para a pesquisa de mutações no gene TTR (Sigma), que foram empregados na reação de PCR, isolando-se segmentos com os exons do gene TTR.

As amostras contendo estes segmentos amplificados foram sequenciadas em ambas as direções por sequenciamento direito com o kit de reação *ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready* (Life Technologies).

Os resultados do sequenciamento foram analisados e as mutações pesquisadas pelo programa *Sequencing Analysis Software v 5.3.1 applied biosystems*.

Após definição da mutação, foi realizada uma busca no site <http://www.amyloidosismutations.com/mut-attr.php> para verificar sua identificação prévia ou se tratava-se de uma mutação nova; e para sua caracterização como patogênica ou não patogênica.

3.7. ESTUDOS ELETROFISIOLÓGICOS

Os estudos de condução nervosa e exame de agulha foram realizados nos aparelhos MEB 4200K e MEB 7200K (NIHON-KOHDEN). Os filtros de frequência utilizados foram de 10 a 10.000Hz para a condução sensitiva e 2 a 10.000Hz para a condução motora. O estímulo foi realizado por pulsos retangulares com duração de 0,2ms, chegando-se até 1ms de acordo com o limiar de excitabilidade do nervo avaliado. A intensidade do estímulo foi ajustada de forma a se obter uma resposta supramáxima dos nervos estudados, chegando-se a um limite de intensidade da corrente de 100mA para a condução motora e 50mA para a condução sensitiva. A amplitude dos potenciais de ação sensitivo (PAS) foram medidas do pico da deflexão positiva inicial, ou saída da linha de base, caso não houvesse pico positivo, até o pico da deflexão negativa. As amplitudes dos potenciais de ação muscular compostos (PAMC) foram medidas da linha de base até o pico da deflexão negativa. As latências dos PAS foram obtidas do artefato de estímulo ao primeiro pico da deflexão positiva ou ao início da deflexão negativa. As latências dos PAMC foram obtidas do artefato de estímulo ao início da deflexão negativa.

3.8. NERVOS SENSITIVOS

Foram estudados os seguintes nervos sensitivos: mediano e/ou ulnar e/ou radial e/ou sural e/ou fibular superficial. A seleção e o número de nervos

estudados variaram entre os pacientes e foi realizado conforme a necessidade para caracterização do padrão de acometimento do sistema nervoso periférico.

O estudo da condução foi realizado de maneira ortodrômica para os nervos medianos e ulnares e de maneira antidrômica para os nervos radiais, surais e fibulares superficiais. Foram utilizados como estimuladores, eletrodos de anel para os nervos medianos e ulnares e de garfo para os demais nervos. O estímulo foi realizado com o catodo direcionado para o nervo estudado. Os PAS foram registrados com eletrodos de agulha subdérmicos ou eletrodos de superfície, com o eletrodo ativo posicionado próximo ao nervo estudado e o de referência a 3 cm de distância. A montagem dos eletrodos foi unipolar nos nervos medianos e ulnares e bipolar nos demais nervos. Os PAS foram promediados com a finalidade de se obter respostas mais nítidas e não deixar dúvidas quanto ao início dos potenciais. A TABELA 1 sumariza as técnicas empregadas para a obtenção dos PAS e os valores normalizados no setor de eletroneuromiografia do HCFMRP-USP.

TABELA 1. Estudo da condução dos nervos sensitivos: registros, estímulos e valores normais.

Nervo	Registro	Estímulo	Valores Normativos
Mediano	Punho	2º quirodáctilo	Amp \geq 9 μ V, VC > 50 m/s, lat dist \leq 3,5 ms
Ulnar	Punho	5º quirodáctilo	Amp \geq 9 μ V, VC > 50 m/s, lat dist \leq 3,1 ms
Radial	Tabaqueira anatômica	Face medial do 1/3 distal do antebraço	Amp \geq 15 μ V, VC > 50 m/s, lat dist \leq 3,5 ms
Sural	Tornozelo, adjacente ao maléolo lateral	Panturilha	Amp \geq 5.6 μ V, VC > 40 m/s, lat dist \leq 3,4 ms
Fibular superficial	Tornozelo	1/3 distal da perna	Amp \geq 5 μ V, VC > 40 m/s, lat dist \leq 3,1 ms

Amp: amplitude; lat dist: latência distal; VC: velocidade de condução.

3.9. NERVOS MOTORES

Foram estudados os seguintes nervos motores: mediano e/ou ulnar e/ou peroneiro e/ou tibial. A seleção e o número de nervos estudados variaram entre os pacientes e foi realizado conforme a necessidade para caracterização do padrão de acometimento do sistema nervoso periférico.

O registro dos PAMC foi realizado com eletrodos de superfície em formato de disco metálico. A montagem foi obtida com o posicionamento do eletrodo ativo sobre o ponto motor do músculo avaliado e o eletrodo de referência na superfície óssea mais próxima e distal. As ondas F foram obtidas distalmente com estímulo supramáximo e o catodo proximal ao anodo, registrando-se as latências mínimas obtidas. A TABELA 2 sumariza as técnicas empregadas para a obtenção dos PAMC e os valores normatizados no setor de eletroneuromiografia do HCFMRP-USP.

TABELA 2. Estudo da condução dos nervos motores: registro, estímulos e valores normais.

Nervo	Registro	Estímulo	Valores Normativos
Mediano	Eletrodo ativo: APB Ref: base do 1º metacarpo	Punho, fossa antecubital, axila	Amp \geq 3,8 mV, VC > 50 m/s, lat dist \leq 4,0 ms
Ulnar	Eletrodo ativo: ADM Ref: base do 5º metacarpo	Punho, abaixo e acima do epicôndilo medial, axila	Amp \geq 3,8 mV, VC > 50 m/s, lat dist \leq 3,1 ms
Peroneiro	Eletrodo ativo: EDB Ref: base do 5º pododáctilo	Tornozelo, abaixo e acima da cabeça da fíbula	Amp \geq 2,8 mV, VC > 40 m/s, lat dist \leq 5,0 ms
Tibial posterior	Eletrodo ativo: <i>abductor hallucis</i> Ref: base do hálux	Tornozelo, fossa poplíteia	Amp \geq 3,60 mV, VC > 40 m/s, lat dist \leq 5,5 ms

Amp: amplitude; VC: velocidade de condução; Lat dist: latência distal; APB: músculo *abductor pollicis brevis*; ADM: *abductor digiti minimi*; EDB: *extensor digitorum brevis*.

3.10. PADRÃO NEUROFISIOLÓGICO DE ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

O padrão de acometimento do sistema nervoso periférico foi definido pelos achados eletroneuromiográficos e classificados em quatro grupos: 1) Normal; 2) Neuropatia axonal (NA); 3) Neuropatia com velocidades intermediárias (NVI); 4) Neuropatia desmielinizante (NDM); 5) Outros.

O padrão normal tinha como pré-requisito mínimo um protocolo para neuropatia, constituído de PAS dos nervos mediano e sural e PAMC dos nervos mediano e peroneiro de um dos dimídios, normal.

A NA e a NVI foram definidas com base nas classificações de velocidade de condução motora (VCM) normal e redução intermediária da VCM, respectivamente, propostas por Saporta et al. (2011). Desta forma, na NA, as VCM dos membros superiores foram maiores que 45m/s e as amplitudes PAS estavam reduzidas. Na NVI, as VCM dos membros superiores foram menores ou iguais a 45m/s e maiores que 35m/s, também associados a redução da amplitude dos PAS. Ambos não preenchem os critérios eletrofisiológicos para PIDC.

A NDM preencheu os critérios eletroneuromiográficos definitivos para PIDC, da Joint Task Force of the EFNS and PNS (2005).

Os pacientes que foram classificados como pertencente ao grupo outros não se adequaram a nenhuma das três classificações acima. Dentre estes, os que foram classificados como tendo uma doença do neurônio motor inferior (DNMI) preenchem os critérios eletroneuromiográficos de Awaji-shima para Esclerose Lateral Amiotrófica, com acometimento do neurônio motor inferior em pelo menos três regiões espinhais (Carvalho,2008; Costa,2012).

3.11. AVALIAÇÃO DO ACOMETIMENTO CARDIOVASCULAR

O acometimento cardíaco foi avaliado nos pacientes que tinham disponível para revisão em prontuário eletrocardiograma (ECG) e/ou holter e/ou ecocardiograma e nos pacientes com uma história inequívoca do seu envolvimento (marcapasso cardíaco).

Os pacientes foram definidos como tendo alteração de condução cardíaca, caso o ECG e/ou Holter demonstrasse um ou mais dos seguintes: 1) distúrbio da condução átrio-ventricular; 2) distúrbio da condução intraventricular; 3) alterações inespecíficas da repolarização ventricular; 4) ritmo não-sinusal. Aqueles que dispunham de ecocardiograma eram caracterizados como tendo cardiomiopatia amiloide, caso um ou mais estivesse presente: 1) espessamento da parede ventricular; 2) ecogenicidade aumentada do miocárdio; 3) espessamento homogêneo da valva cardíaca; 4) disfunção diastólica (Queiroz, 2015).

3.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas as análises descritivas dos dois grupos TTRMet30 e não TTRMet30.

Os subgrupos TTRMet30 de início precoce e TTRMet30 de início tardio foram analisados transversalmente e realizada análise estatística com o auxílio do software SPSS Statistic versão 17.0. Adotamos como nível de significância $p \leq 0,05$.

Para as variáveis numéricas (idade, intervalo para diagnóstico), inicialmente verificamos a hipótese de possuírem distribuição Normal, através do teste de Shapiro-Wilk, que rejeitou esta hipótese. Portanto, para comparação destas variáveis entre os grupos, utilizamos o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Para comparação das variáveis categóricas (sexo, manifestação clínica inicial, apresentação clínica na primeira consulta, disautonomia, história familiar, padrão de acometimento do sistema nervoso periférico, alteração da condução cardíaca, cardiomiopatia) entre os grupos, utilizamos o Teste Exato do Qui-quadrado, pois em todas as tabelas encontramos mais de 25% das caselas com valor esperado menor do que 5. Para as variáveis apresentação clínica na primeira consulta, disfunção sexual e história familiar estimamos o odds ratio e o intervalo de confiança de 95%.

3.13. APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (Processo HCRP nº 6955/2006), sendo dispensado o pedido de consentimento formal dos pacientes, visto tratar-se de análise retrospectiva dos dados contidos em prontuário.

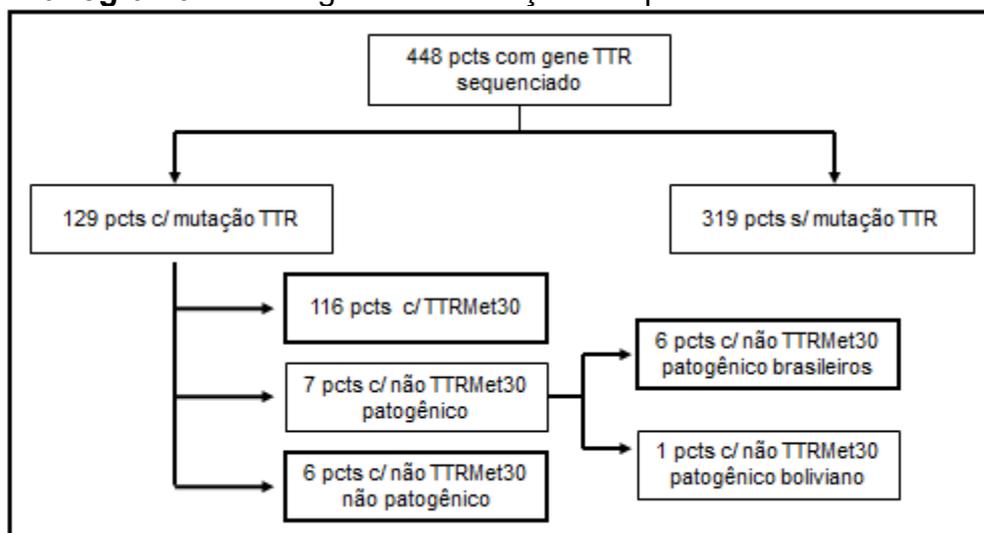
4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISE DESCRITIVA DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Durante o período selecionado para análise, 448 pacientes tiveram seu gene TTR sequenciado, sendo que 129 destes apresentaram uma mutação no gene TTR e, portanto, preenchem os critérios de inclusão. Dos 129 pacientes, 116 foram identificados com a mutação TTR Val30Met (grupo TTRMet30), 7 com uma mutação não TTR Val30Met patogênica (grupo não TTRMet30 patogênico) e 6 com a mutação não TTR Val30Met polimorfismo não patogênico (grupo não TTRMet30 não patogênico).

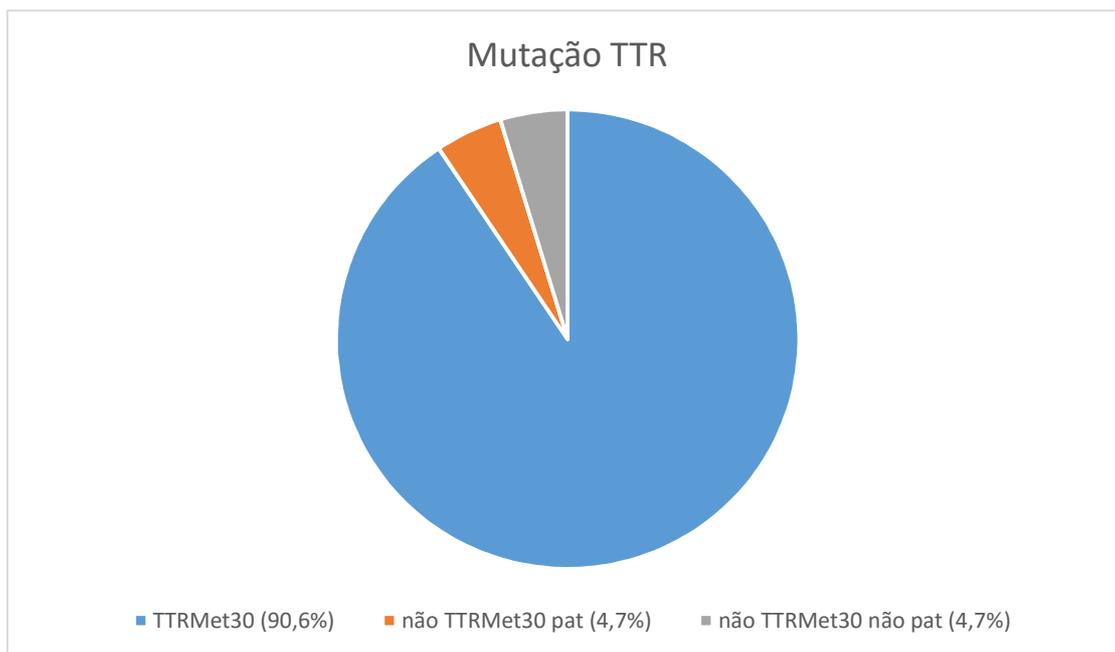
Um dos 7 pacientes do grupo não TTRMet30 patogênico era procedente da Bolívia e não foi incluído na análise descritiva, visto tratar-se de um estudo epidemiológico brasileiro. Desta forma, o grupo não TTRMet30 patogênico foi constituído de 6 pacientes no total. (Fluxograma 1).

Fluxograma 1. Fluxograma de seleção dos pacientes do estudo.



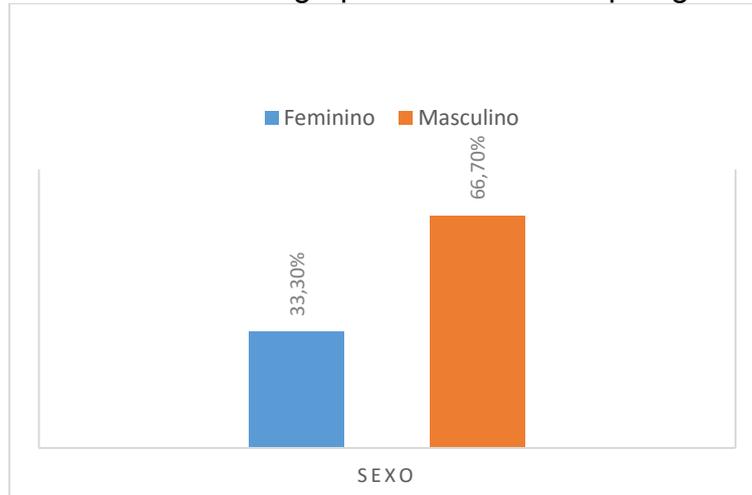
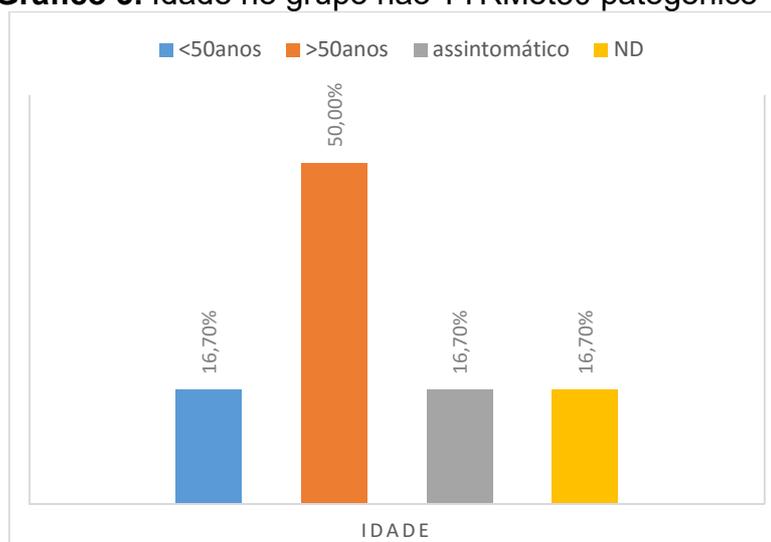
Em termos percentuais, o grupo TTRMet30 correspondeu a 90,6% do total da população do estudo e os grupos não TTRMet 30 patogênico e não patogênico a 4,7% cada (Gráfico1).

Gráfico 1. População de pacientes com mutação no gene TTR.



4.2. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET30 PATOGÊNICO

Os 6 pacientes do grupo não TTRMet30 patogênico incluíam 2 mulheres (33,3%) e 4 homens (66,7%). Com relação a idade de início das manifestações clínicas, 1 (16,7%) deles teve idade de início antes dos 50 anos, 3 (50%) após os 50 anos, 1 (16,7%) era assintomático e 1 (16,7%) não tinha este dado disponível (Gráficos 2 e 3).

Gráfico 2. Sexo no grupo não TTRMet30 patogênico**Gráfico 3. Idade no grupo não TTRMet30 patogênico**

As mutações não TTRMet30 patogênicas encontradas foram 4: 2 pacientes com a mutação TTRAsp38Tyr, 2 pacientes com a mutação TTRIle107Val, 1 paciente com a mutação TTRVal71Ala e 1 paciente com a mutação Val122Ile.

4.2.1 DESCRIÇÃO CLÍNICA DOS DOIS PACIENTES COM A MUTAÇÃO TTRAsp38Tyr

A mutação TTRAsp38Tyr é uma mutação nova que foi encontrada em duas irmãs, que apresentaram um início tardio (após os 50 anos) do quadro clínico.

A primeira paciente, do sexo feminino, aos 56 anos, notou parestesias nas mãos. Após um ano, evoluiu com parestesias nos pés e tornozelos e dor neuropática com piora progressiva. Após os 58 anos, apresentou hipotensão postural e episódios de síncope, geralmente associadas ao exercício físico. Nesta época, recebeu o diagnóstico de cardiopatia amilóide. Relatava história de falecimento materno aos 79 anos, com fraqueza generalizada, mas sem diagnóstico definido. Ao exame neurológico, observado disestesia em pés, com redução das sensibilidades térmica, dolorosa e vibratória distalmente nos membros inferiores. A força estava reduzida também apenas distalmente nos membros inferiores e os reflexos osteotendíneos (ROT) estavam ausentes nos tornozelos e reduzidos no punho, sendo normais nos outros locais de estudo. A ENMG evidenciou uma neuropatia sensitivo-motora, de predomínio sensitivo, axonal.

A segunda paciente procurou atendimento médico aos 68 anos, com fraqueza em membros inferiores rapidamente progressiva, associada a constipação. Inicialmente, negava sintomas sensitivos. Ao exame neurológico, encontrava-se restrita à cadeira de rodas e os dedos dos pés eram em martelo. As sensibilidades dolorosa e tátil estavam reduzidas nas mãos e nos pés e as

sensibilidades vibratória e cinético-postural estavam ausentes até os tornozelos. Havia fraqueza proximal e distal, simétrica, em membros superiores e inferiores e os ROT estavam globalmente abolidos. A função cardíaca era normal. A primeira ENMG evidenciou uma neuropatia sensitivo-motora axonal e a segunda ENMG, realizada 7 meses após, demonstrou a presença de uma neuropatia sensitivo-motora, assimétrica, desmielinizante, com grave perda axonal secundária. Inicialmente, pela hipótese diagnóstica de PIDC, foi tratada em outro serviço com corticoterapia endovenosa sem melhora clínica. Quando iniciou seguimento neste serviço e foi identificado o seu grau de parentesco com a paciente supracitada, estabeleceu-se o diagnóstico de FAP-TTR.

4.2.2. DESCRIÇÃO CLÍNICA DOS DOIS PACIENTES COM A MUTAÇÃO TTR^{Ile107Val}

A mutação TTR^{Ile107Val} foi encontrada em dois pacientes, que eram parentes de primeiro grau (pai e filho). O filho era assintomático no momento do diagnóstico, não tendo mais retornado para análise.

O paciente seguido em nosso serviço (pai), do sexo masculino, relatou dormência do quinto pododáctilo esquerdo aos 54 anos. Seguiu-se dormência nas mãos, que foi tratada cirurgicamente para síndrome do túnel do carpo, sem alívio dos sintomas. Evoluiu com piora da dormência envolvendo toda a região plantar esquerda e como a RNM de coluna lombossacra evidenciou uma hérnia

discal lombar L4-L5, foi tratado cirurgicamente, apresentando piora clínica logo após. Houve piora progressiva dos sintomas sensitivos e aparecimento de fraqueza em membros superiores e inferiores, com dificuldade para subir escadas. Ao exame físico, foi encontrado hipoestesia térmica-dolorosa até acima dos joelhos e até os punhos, apalestesia até joelhos e cotovelos e alteração da sensibilidade cinético-postural até os joelhos e distalmente nas mãos. Tinha força reduzida em membros superiores e inferiores, pior distalmente, com atrofia mais acentuada em pernas e pés e os ROT estavam abolidos. Adicionalmente, notado déficit de convergência da movimentação ocular extrínseca. A ENMG evidenciou uma neuropatia axonal, o LCR tinha celularidade de 5 com 71% de linfócito (VN: até 4) e proteínorraquia de 43 (VN: até 40) e índice de IgG igual a 0,9 (VN: até 0,7). Recebeu o tratamento para PIDC, inicialmente com 5 pulsos mensais com metilprednisolona e ciclofosfamida endovenosas, sem resposta clínica, seguido de pulsos mensais de imunoglobulina humana endovenosa, mantendo piora clínica gradual. Ao quadro clínico, associou-se perda de peso, constipação intestinal, disfunção sexual e hipotensão postural. Havia relato de mãe e tio materno com polineuropatia associada a disautonomia. Aos 62 anos, realizado o sequenciamento do gene TTR e identificada a mutação não TTRMet30 (TTR Ile107Val).

4.2.3. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE COM A MUTAÇÃO TTRVal71Ala

Trata-se de um paciente do sexo masculino com início precoce dos sintomas (antes dos 50 anos). Aos 34 anos, queixava-se de dor em queimação e formigamento nas mãos e nos pés, com piora progressiva. Aos 35 anos, aproximadamente 1,5 anos após o início do quadro clínico, notou dificuldade para deambular, com sensação de pés pesados e perdendo os chinelos ao andar. A perna esquerda era a mais fraca e não havia fraqueza em membros superiores. Neste momento, fez tratamento com corticoterapia via oral, 60mg/dia por 60 dias, com escalonamento gradual da dose até sua retirada, sem nenhuma resposta clínica. Adicionalmente, começou a queixar-se de sensação de plenitude gástrica, inapetência e vômitos, com perda de 30 kg em 2 anos. A história familiar para polineuropatia era negativa e o paciente não tinha comorbidades. Foi avaliado no nosso serviço aos 37 anos e seu exame neurológico evidenciou uma marcha escarvante, com hipotrofia distalmente nas pernas e nas regiões tenares e hipotenares e cianose e frialdade, com rarefação de pelos, nas extremidades. Havia hipoestesia térmica-dolorosa até acima dos joelhos, até cotovelos e ao redor da cicatriz umbilical. A sensibilidade vibratória estava ausente em artelhos e a sensibilidade cinético-postural era normal. A força era reduzida apenas distalmente em membros superiores e reduzida globalmente em membros inferiores, sendo muito mais grave nos músculos mais distais. Os ROT eram reduzidos distalmente em membros superiores e abolidos em membros inferiores. A ENMG evidenciou um neuropatia sensitivo-motora com reduções intermediárias da velocidade de condução. Realizada a biópsia do nervo sural esquerdo, que evidenciou uma neuropatia axonal crônica grave, com presença de depósitos amilóides. O

sequenciamento do gene TTR evidenciou a presença da mutação não TTRMet30: TTRVal71Ala.

Evoluiu com piora progressiva, associando-se hipotensão postural, diarreia e disfunção sexual. Aos 41 anos, necessitava de apoio unilateral para deambular longas distâncias. Foi submetido ao transplante ortotópico de fígado, permanecendo estável por 3 meses, quando apresentou recrudescência das náuseas e dos vômitos, associados a diarreia. Feita RNM de abdome que evidenciou estenose das vias biliares no local da anastomose, tendo sido tratado por duas vezes com dilatação das vias biliares e colocação de próteses por CPRE, com controle do quadro clínico. Nesta mesma época, em vigência de queixa de disfagia, realizada manometria esofágica que demonstrou a presença de motilidade esofágica ineficaz.

Aproximadamente 3,5 anos após o transplante, apesar do quadro neurológico estável, paciente notou embaçamento visual bilateral e com detecção de depósitos amilóides nos corpos vítreos pela avaliação oftalmológica.

A partir deste momento, evoluiu com fraqueza em membros superiores e inferiores, permanecendo restrito a cadeira de rodas após 6 anos do transplante. Houve piora da disfagia, alteração da fala e aparecimento de incontinência urinária, com infecções urinárias de repetição. Para investigação da disfonia, realizou-se biópsia de faringe, epiglote e prega vestibular direita, compatível com a presença de depósitos amilóides.

Após 8 anos do transplante ortotópico do fígado, aos 49 anos, o paciente foi a óbito causado por sepse de foco cutâneo, por úlceras de pressão infectadas, decorrentes da imobilidade.

4.2.4. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE COM A MUTAÇÃO TTRVal122Ile

Trata-se de um paciente do sexo masculino que foi encaminhado para o nosso serviço para o diagnóstico molecular, com a detecção da mutação não TTRMet30, TTRVal122Ile. Seu seguimento clínico e tratamento foram feitos em outro centro médico. Trata-se de caso com predominância das manifestações cardíacas, embora neuropatia periférica estivesse presente.

4.2.5. DESCRIÇÃO CLÍNICA DO PACIENTE BOLIVIANO

Trata-se de uma paciente do sexo feminino, natural da Bolívia, que foi encaminhado para o nosso serviço para o diagnóstico molecular, com a detecção da mutação não TTRMet30, TTRThr60Ala. Seu seguimento clínico e tratamento foram feitos em outro centro médico.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET30 NÃO PATOGÊNICO

Os 6 pacientes do grupo não TTRMet30 não patogênico incluíam 2 mulheres (33,3%) e 4 homens (66,7%).

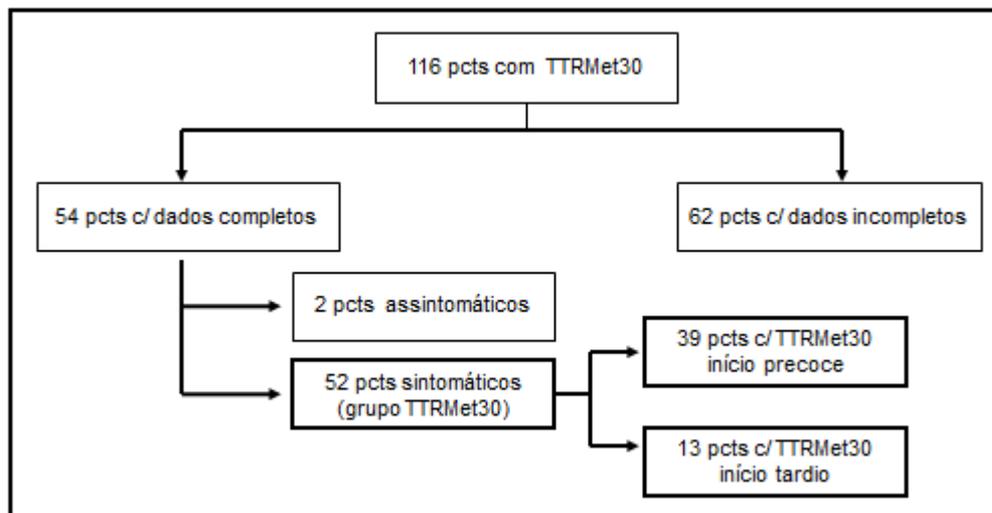
As mutações não TTRMet30 não patogênicas foram duas: 5 pacientes com a mutação TTRGly6Ser e 1 paciente com a mutação Thr119Thr.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO TTRMET30

No grupo TTRMet30, dos 116 pacientes, 54 possuíam dados clínicos e de exames complementares completos, que permitiram uma análise detalhada. Destes 54 pacientes, 2 eram portadores assintomáticos da mutação TTRMet30, resultando em 52 pacientes com PAF-TTR. Desta forma, os dados citados de agora em diante, relativos ao grupo TTRMet30, referem-se a estes 52 pacientes.

Os 52 pacientes do grupo TTRMet30 foram divididos em dois grupos pela idade de início dos sintomas: 39 (75%) pacientes com TTRMet30 de início precoce (menor que 50 anos) e 13 (25%) pacientes com TTRMet30 de início tardio (maior ou igual a 50 anos) (Fluxograma 2).

Fluxograma 2. Grupo TTRMet30 estudado



A idade média de início dos sintomas no grupo TTRMet30 de início precoce foi de 32,75 anos e a do grupo TTRMet30 de início tardio foi de 63 anos ($p < 0,001$). No grupo TTRMet30 de início precoce, 18 (46,2%) eram mulheres e 21 (53,8%) homens. Já no grupo TTRMet30 de início tardio, havia apenas 1 (7,7%) mulher e 12 (92,3%) eram homens ($p = 0,01$) (Tabela 1).

O intervalo de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 3,89 anos no grupo TTRMet30 de início precoce e de 3,76 anos no grupo TTRMet30 de início tardio, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p = 0,1$).

Tabela 1. Dados demográficos do grupo TTRMet30

	TTRMet30 início precoce	TTRMet30 início tardio	Valor p
Nº de pacientes	39	13	
Idade/início	32,75(20-49)	63(50-73)	p<0,001
Sexo	18(46,2%)F/21(53,8%)M	1(7,7%)F/12(92,3%)M	p=0,01
Tempo/diagnóstico	3,89(0-42)	3,76(3-8)	P=0,1

Idade/início: idade de início dos sintomas (valores mínimo e máximo em anos);
tempo/diagnóstico: intervalo em anos entre o início dos sintomas e o diagnóstico (valores mínimo e máximo em anos); F: feminino; M: masculino

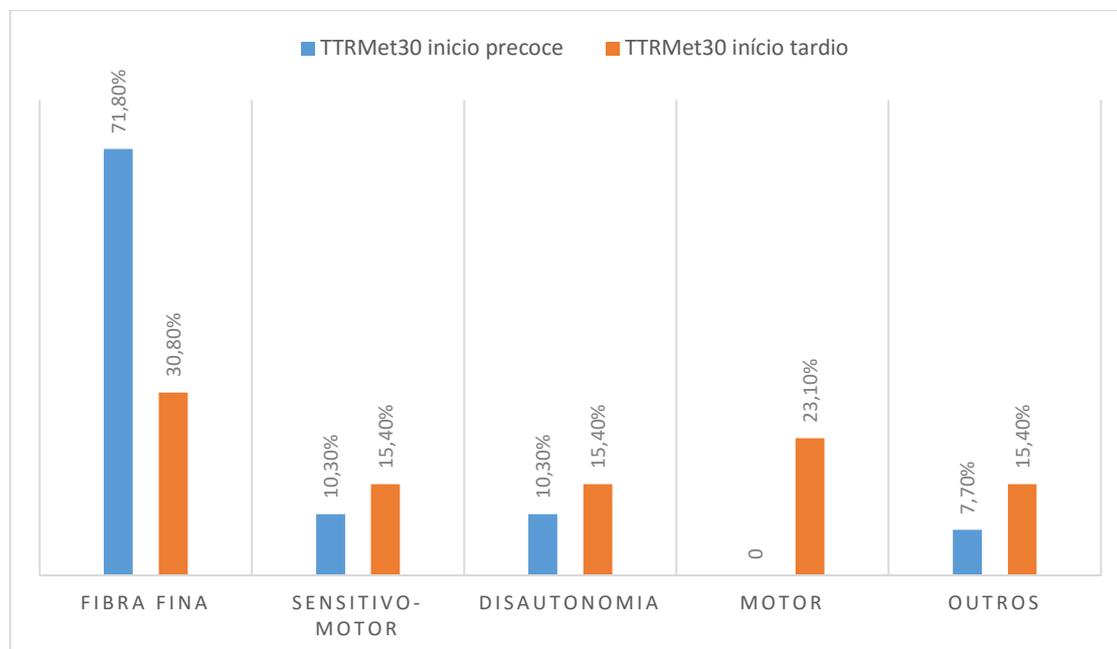
4.4.1. MANIFESTAÇÃO CLÍNICA INICIAL

A manifestação clínica inicial mais frequente nos pacientes pertencentes ao grupo TTRMet30 de início precoce foram as manifestações sensitivas de fibras finas, observadas em 28 (71,8%) pacientes. Dentre os demais, 4(10,3%) apresentaram sintoma sensitivo-motor, 4(10,3%) disautonomia e 3(7,7%) outros sintomas. Estes três últimos pacientes citados, referiram que os sintomas sensitivos de fibras finas iniciaram juntamente com disautonomia, não tendo sido relatado em prontuário diferença temporal em seus surgimentos. Nenhum paciente deste grupo apresentou sintoma motor como apresentação inicial.

No grupo TTRMet30 de início tardio, 4(30,8%) referiram como sintoma inicial manifestações sensitivas de fibras finas, 2(15,4%) sensitivo-motor, 2(15,4%) disautonomia, 3(23,1%) motor e 2(15,4%) outros sintomas. Os dois outros sintomas iniciais descritos foram sintoma motor iniciando-se juntamente com disautonomia e sintoma cardiovascular (arritmia) (Gráfico 4).

Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, que ocorreu por um número consideravelmente maior de pacientes no grupo TTRMet30 de início precoce com sintoma sensitivo fibra fina como manifestação clínica inicial ($p=0,04$). O sintoma motor como apresentação clínica inicial foi visto apenas no grupo TTRMet30 de início tardio com diferença estatisticamente significativa ($p=0,02$).

Gráfico 4. Manifestação clínica inicial no grupo TTRmet30



4.4.2. APRESENTAÇÃO CLÍNICA NA PRIMEIRA CONSULTA

Os dois grupos foram avaliados e comparados quanto a apresentação clínica em sua primeira consulta neste serviço e não apresentaram diferença estatisticamente significativa com relação a presença de acometimento sensitivo de fibras finas, de acometimento sensitivo de fibras grossas e de disautonomia. No grupo TTRMet30 de início tardio, 1 paciente não tinha o dado de acometimento de sensitivo de fibra grossa disponível (Tabela 2).

Acometimento motor esteve presente em 24(61,5%) dos pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce e 12(92,3%) dos pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio. Houve uma tendência a uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,08$), com um risco 7,5 vezes maior do grupo TTRMet30 de início tardio de apresentar acometimento motor na avaliação inicial (OR:7,5 [I.C.95% 0,883 - 63,718]).

Tabela 2. Apresentação clínica em primeira consulta no grupo TTRMet30

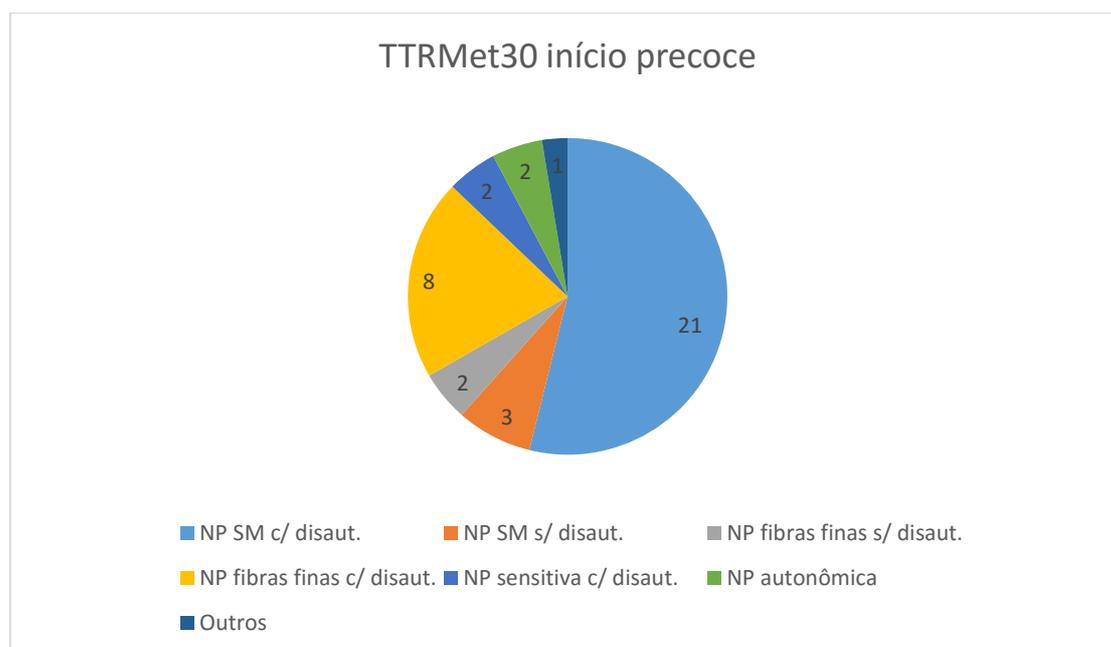
	TTRMet30 início precoce	TTRMet início tardio	Valor p	OR[I.C.95%]
Fibra fina	34(87,2%)	12(92,2%)	$p=1,00$	1,7[0.2-16,7]
Fibra grossa	21(53,80)	9(75%)	$p=0,32$	2,6[0,6-11,0]
Motor	24(61,5%)	12(92,3%)	$p=0,08$	7,5[0.9-63,7]
Disautonomia	33(84,6%)	10(76,9%)	$p=0,53$	

Fibra fina: acometimento sensitivo de fibra fina; fibra grossa: acometimento sensitivo de fibra grossa; motor: acometimento motor

Os pacientes de ambos os grupos TTRMet30 de início tardio e precoce foram divididos em 7 grupos, de acordo com a combinação de sinais/sintomas observados na primeira consulta: 1) Neuropatia sensitivo-motora com disautonomia; 2) Neuropatia sensitivo-motora sem disautonomia; 3) Neuropatia de fibras finas sem disautonomia; 4) Neuropatia de fibras finas com disautonomia; 5) Neuropatia sensitiva com disautonomia; 6) Neuropatia autonômica e 7) Outros. Não houve diferença estatisticamente significativa nesta forma de classificação da apresentação clínica entre os grupos ($p=0,183$) (Gráficos 5 e 6).

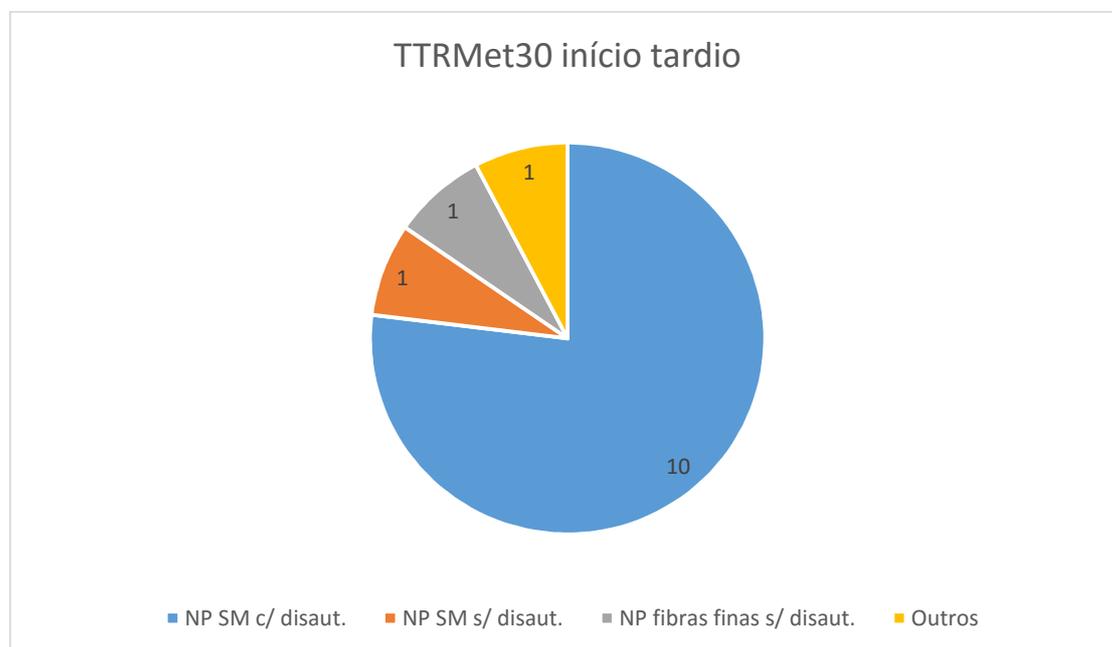
Dois pacientes enquadraram-se na classificação outros, 1 do grupo TTRMet30 de início precoce, que apresentou-se com uma síndrome do túnel do carpo, e 1 do grupo TTRMet30 de início tardio, que apresentou-se com arritmia.

Gráfico 5. Padrão de neuropatia na apresentação clínica no grupo TTRMet30 início precoce



NP SM c/ disaut.: Neuropatia sensitivo-motora com disautonomia; NP SM s/ disaut.: Neuropatia sensitivo-motora sem disautonomia; NP fibras finas s/ disaut.: Neuropatia de fibras finas sem disautonomia; NP c/ disaut.: Neuropatia de fibras finas com disautonomia; NP sensitiva c/ disaut.: Neuropatia sensitiva com disautonomia; NP autonômica: Neuropatia autonômica.

Gráfico 6. Padrão de neuropatia na apresentação clínica no grupo TTRMet30 início tardio



NP SM c/ disaut.: Neuropatia sensitivo-motora com disautonomia; NP SM s/ disaut.: Neuropatia sensitivo-motora sem disautonomia; NP fibras finas s/ disaut.: Neuropatia de fibras finas sem disautonomia

4.4.3. DISAUTONOMIA NO PERÍODO DE SEGUIMENTO

Todos os pacientes avaliados em ambos os grupos apresentaram disautonomia em algum momento da evolução da doença.

A tabela 3 contém os dados relativos a presença de disautonomia nos grupos TTRMet30 de início precoce e início tardio. Nenhum dos sinais e sintomas de disautonomia avaliados apresentou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

A presença de disfunção sexual não foi diferente entre os dois grupos ($p=0,1$), entretanto, os pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio

apresentaram um risco 3,2 vezes maior de apresentar esta disfunção comparado com o grupo TTRMet30 de início precoce.

No grupo TTRMet30 de início precoce, apenas 1 paciente não dispunha de dados sobre a ocorrência de perda de peso e no grupo TTRMet30 de início tardio, 1 paciente não tinha disponível relato dos sinais/sintomas de disautonomia, exceto de hipotensão postural e disfagia.

Tabela 3. Presença de disautonomia do grupo TTRMet30

	TTRMet30 início precoce	TTRMet30 início tardio	Valor P	O.R. [I.C.95%]
Perda de peso	28(73,7%)	7(58,3%)	p=0,47	0,5[0,13-1,94]
Alt. háb. intestinal	35(89,7%)	11(97,7%)	p=1,0	1,26[0,13-12,46]
Vômitos	8(20,5%)	0	p=0,17	0,8[0,68-0,93]
Plenitude gástrica	10(715,6%)	2(16,7%)	p=0,71	0,58[0,11-3,11]
Disfunção urinária	20(51,3%)	6(50,0%)	p=1,0	0,95[0,26-3,47]
Disfunção sexual	12(30,8%)	7(58,3%)	p=0,1	3,15[0,83-11,96]
Sudorese	11(28,2%)	1(8,3%)	p=0,25	0,23[0,03-2,01]
Hip. postural	25(64,1%)	10(76,9%)	p=0,51	1,87[0,44-7,93]
Disfagia	8(20,5%)	3(21,2%)	p=1,0	1,16[0,26-5,24]

Alt. háb. Intestinal: alteração de hábito intestinal; hip. Postural: hipotensão postural

4.4.4. HISTÓRIA FAMILIAR

A existência de história familiar esteve presente em 36(92,3%) pacientes no grupo TTRMet30 de início precoce e em 9(69,2%) pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio.

Esta diferença representa uma chance 80% menor do grupo TTRMet30 de início tardio apresentar história familiar positiva comparada com o grupo de início precoce ($p=0,056$, OR:0,188[I.C.95%:0,04-0.99]).

4.4.5. PADRÃO NEUROFISIOLÓGICO DE ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

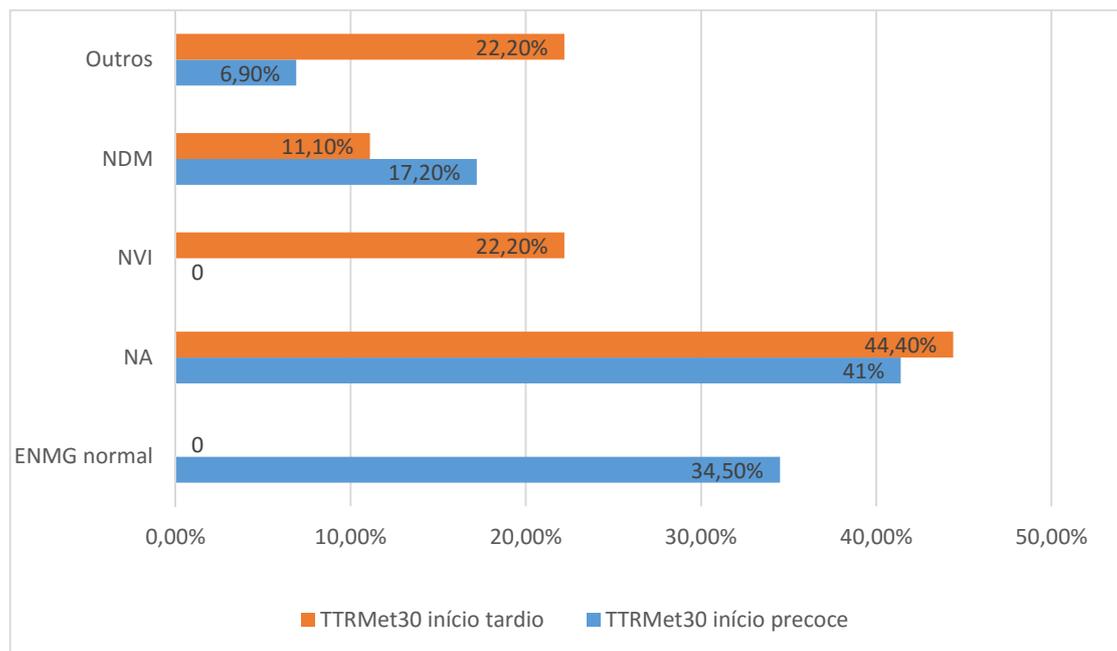
No grupo do TTRMet30 de início precoce, 30 dos 39 pacientes tinham ENMG disponível e no grupo TTRMet30 de início tardio 9 dos 12 pacientes.

O padrão eletroneuromiográfico de acometimento do sistema nervoso periférico, demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos TTRMet30 de início precoce e o TTRMet30 de início tardio. Esta diferença foi atribuída a presença de 10(34,5%) pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce com eletroneuromiografia normal, fato que não foi observado em nenhum paciente do grupo TTRMet30 de início tardio ($p=0,05$). Além disso, no grupo TTRMet30 de início precoce, não foi observado a presença de neuropatia com velocidade intermediária, achado presente em 2(22,2%) pacientes no grupo TTRMet30 de início tardio ($p=0,05$) (Gráfico 7).

Com relação aos pacientes que apresentaram alterações eletroneuromiográficas no grupo TTRMet30 de início precoce, 12(41,4%) corresponderam a NA; 5(17,2%) a NDM e 2(6,9%) a outros padrões de acometimento.

Já no grupo TTRMet30 de início tardio, 4(44,4%) dos pacientes tinham NA; 2(22,2%) NVI; 1(11,1%) NDM e 2(22,2%) apresentaram outros padrões de acometimento.

Gráfico 7. Padrão eletroneuromiográfico no grupo TTRMet30



4.4.5.1. OUTROS PADRÕES NEUROFISIOLÓGICOS

DE ACOMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

No grupo TTRMet30 de início precoce, os 2 pacientes com outros padrões eletroneuromiográficos demonstraram apresentações atípicas para PAF-TTR. O primeiro paciente relatou clinicamente alteração de hábito intestinal, seguido de sintomas sensitivo-motores e a ENMG demonstrou uma DNMI. Apesar da queixa de alteração da sensibilidade, a condução sensitiva

estava normal. O segundo paciente evoluiu com um neuropatia sensitivo-motora e autonômica com manifestações cardiovasculares secundárias a alteração da condução cardíaca (bradicardia sinusal e bloqueio de ramo esquerdo) e a ENMG apontou uma neuropatia de acentuado predomínio motor.

No grupo TTRMet30 de início tardio, dos 2 pacientes com outros padrões eletroneuromiográficos, 1 foi classificado como indefinido por exame incompleto em virtude solicitação de interrupção do exame pelo paciente. O outro paciente queixava-se de dor neuropática nos pés e parestesias em mãos, associado à disfunção sexual, e a ENMG demonstrou STC bilateralmente associado a um acometimento assimétrico dos membros inferiores que denominamos pseudoplexo lombossacro. Na ENMG dos membros inferiores, os PAS dos nervos sural, fibular superficial e safeno, apenas a direita, estavam ausentes e havia desnervação dos músculos de inervação segmentar L5-S1 do mesmo lado; associadamente notou-se uma acometimento pré-ganglionar L5 a esquerda, com maior envolvimento dos músculos mais distais.

4.4.6. ACOMETIMENTO CARDIOVASCULAR

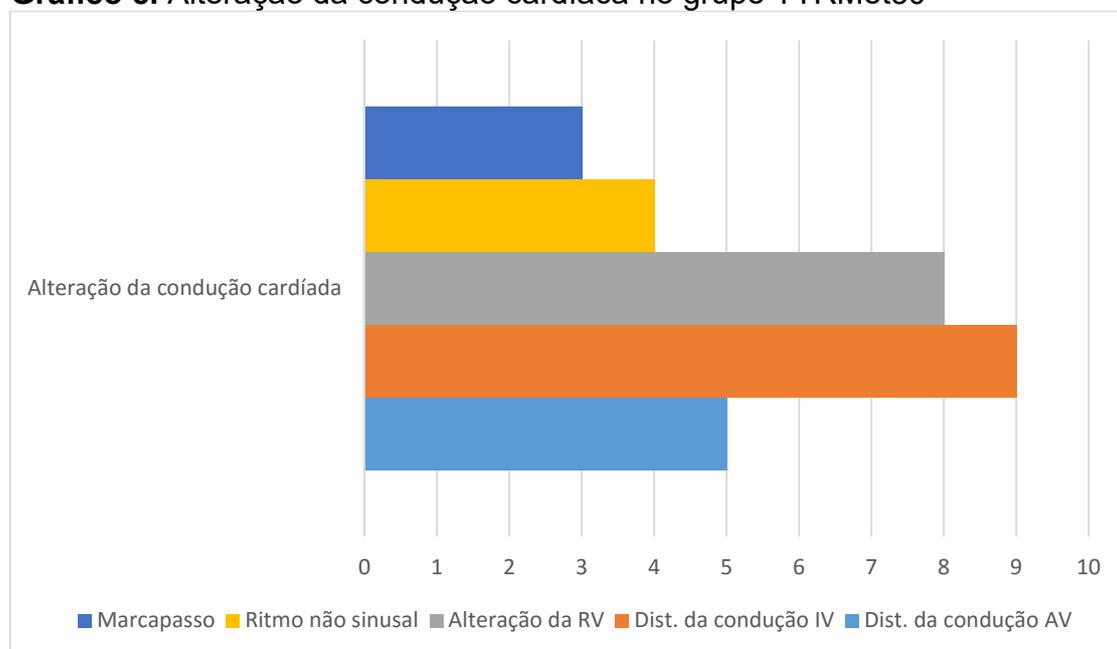
4.4.6.1. ALTERAÇÃO DA CONDUÇÃO CARDÍACA

No grupo TTRMet30 de início precoce o ECG e/ou holter estava disponível em 19 pacientes, com as alterações da condução cardíaca

observadas em 16(84,2%). Todos os 5(100%) pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio com estes exames disponíveis tinham alteração da condução cardíaca. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,58$) (Tabela 4).

O gráfico 8 demonstra as alterações de condução cardíaca observadas no total dos 21 pacientes pertencentes aos dois grupos. Alguns pacientes apresentaram mais de um tipo de alteração.

Gráfico 8. Alteração da condução cardíaca no grupo TTRMet30



Alteração RV: alteração da repolarização ventricular; Dist. da condução IV: distúrbio da condução intraventricular; Dist. da condução AV: distúrbio da condução átrio-ventricular

4.4.6.2. CARDIOMIOPATIA AMILÓIDE

A presença de cardiopatia amilóide foi avaliada em 18 pacientes do grupo TTRMet 30 de início precoce e em 7 pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio. Observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com uma chance maior do grupo TTRMet30 desenvolver cardiopatia amiloide ao longo de sua evolução ($p=0,007$) (Tabela 4).

Tabela 4. Acometimento cardiovascular no grupo TTRMet30

n1: número total de pacientes avaliados no grupo TTRMet30 início precoce; n2: número total

	n1	TTRMet30 início precoce	n2	TTRMet30 início tardio	Valor p
Alteração condução cardíaca	19	16(84,2%)	5	5(100%)	$p=0,58$
Cardiomiopatia amilóide	18	2(11,1%)	7	5(71,4%)	$p=0,007$

de pacientes avaliados no grupo TTRMet30 início tardio

4.4.7. ACOMETIMENTO MULTISISTÊMICO NO GRUPO

TTRMET30

Um acometimento de outros órgãos foi registrado, afóra os envoltimentos mais comuns do sistema nervoso periférico e sistema cardiovascular.

O envolvimento ocular foi inequívoco em dois pacientes: um com glaucoma do grupo TTRMet30 de início precoce e outro com distrofia corneana no grupo de início tardio.

Houve evidência de acometimento renal em 2 pacientes com TTRMet30 de início precoce, um com glomerulonefrite crônica e outro com insuficiência

renal com proteinúria, e 1 paciente com TTRMet30 de início tardio com microalbuminúria, sem comorbidades que justificassem o achado.

Alterações cutâneas estavam presentes em 2 pacientes com TTRMet30 de início precoce (eczema craqueli e lesões cutâneas com infiltrado linfocitário perivascular e perianexial) e em 1 paciente com início tardio (nódulos subcutâneos).

Por último, em 1 paciente do grupo TTRMet30 com início precoce foi demonstrado uma paquimeningite assintomática.

4.4.8 TRATAMENTO COM TRANSPLANTE ORTOTÓPICO DE FÍGADO

No grupo TTRMet30 de início precoce 14 pacientes foram tratados com transplante ortotópico de fígado neste serviço. Destes, 7(50%) apresentaram melhora clínica ou estabilidade, tendo 2 pacientes perdido o seu seguimento, com 2 e 4 anos após o transplante. Os outros 5 mantêm o acompanhamento regular, 1 com 3 anos, 1 com 8 anos e 3 com 9 anos após o procedimento.

Cinco óbitos foram precoces em relação ao transplante de fígado, estando entre as causas identificadas, 1 paciente com trombose da artéria hepática, 1 paciente com síndrome de reperfusão, 1 paciente com síndrome de reperfusão e trombose de artéria hepática, 1 paciente com disfunção do enxerto e 1 paciente com distúrbio da coagulação intravascular disseminada.

Outros 2 pacientes faleceram tardiamente após o transplante, um com 1 ano sem a causa especificada e o outro no quarto ano com complicações infecciosas provavelmente secundárias a imunossupressão que se segue ao transplante.

5. DISCUSSÃO

5.1. CASUÍSTICA E PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

No presente trabalho, foram incluídos 128 pacientes brasileiros atendidos no serviço de Neurogenética do HC da FMRP-USP desde 1997 e que tiveram uma mutação no gene TTR identificada. Destes 128 pacientes, 116 (90,6%) pacientes pertenciam ao grupo TTRMet30 e 6 (4,7%) pacientes a cada um dos grupos não TTRMet30 patogênico e não patogênico. Cruz (2012) descreveu 102 pacientes brasileiros com FAP-TTR acompanhados num hospital universitário no Rio de Janeiro/RJ, dos quais 96% carregavam a mutação TTRVal30Met. Ambos os estudos confirmam que a mutação TTRVal30Met é a mais prevalente no Brasil, possivelmente pela colonização brasileira ter sido feita predominantemente por portugueses. Esta hipótese de a mutação brasileira ter se originado em Portugal foi comprovada pela identificação de um haplótipo comum entre pacientes portugueses e brasileiros (ZAROS, 2008).

Ao considerarmos conjuntamente o total de 230 pacientes com uma mutação TTR pertencentes a esses dois grandes centros de referência em FAP-TTR no Brasil, observa-se que o Brasil possui um número de pacientes inferior apenas a 4 países europeus de maior prevalência da doença: Portugal com 2000 pacientes com FAP-TTR, Itália com 500-600, França, com 500 e Suécia com 250 (PARMAN,2016). Além disso, este número de pacientes

brasileiros certamente é subestimado pela existência de outros centros médicos independentes e por esta doença, com grande heterogeneidade fenotípica e genotípica, permanecer subdiagnosticada em nosso país.

O predomínio da mutação TTRVal30Met no Brasil, confirmado neste estudo, assemelha-se ao perfil epidemiológico mutacional de países considerados endêmicos para FAP-TTR (Portugal, Suécia e Japão) (IKEDA, 2002; PARMAN, 2016). Em Portugal, a TTRVal30Met é responsável por 99% dos casos, sendo o 1% restante decorrente de três mutações não TTRVal30Met: TTRVal28Met, TTRSer52Pro e TTRSer50Arg. Na Suécia, 95% dos pacientes tem FAP-TTRVal30Met e são descritas duas outras mutações também associadas a este fenótipo: TTRHis88Arg e TTRAla45Ser (PARMAN, 2016). Já no Japão a variabilidade genotípica é maior, com a TTRVal30Met prevalecendo em dois grandes focos da doença: cidade de Arao, prefeitura de Kumamoto, e cidade de Ogawa, prefeitura de Nagano. Fora destas áreas, pelo menos 19 mutações não TTRVal30Met já foram descritas (IKEDA, 2002).

Este panorama muda quando são avaliados países não endêmicos para FAP-TTR. Nos EUA e no Reino Unido, a mutação TTRThr60Ala foi descrita como a mais frequente, seguida pela TTRVal30Met (SWIECICKI, 2015; CARR, 2016). Em outros países europeus, como Bulgária, Turquia e Itália, a proporção de pacientes com TTRVal30Met também é menor (PARMAN, 2016). No México, foi descrito apenas um caso esporádico com a mutação TTRVal30Met (HERRICK, 1996) e os demais casos com pacientes mexicanos, relatados na literatura, envolvem mutações não TTRVal30Met: TTRSer50Arg, TTRSer52Pro e TTRGly47Ala (GONZALEZ-DUARTE, 2013).

O grupo não TTRMet30 patogênico do estudo representou 4,7% (6 pacientes) do total da população estudada, conforme mencionado acima. Neste grupo foram identificadas 4 mutações patogênicas: 2 pacientes com a mutação TTRAsp38Tyr, 2 pacientes com a mutação TTRlle107Val, 1 paciente com a mutação TTRVal71Ala e 1 paciente com a mutação Val122Ile. Até momento do presente estudo, haviam sido descritas quatro mutações não TTRVal30Met em pacientes brasileiros: TTRVal71Ala (MARQUES, 2010), TTRlle107Val (CRUZ, 2012), TTRAla19Asp (FERREIRA, 2013) e TTRAsp38Tyr (LAVIGNE-MOREIRA, 2015), sendo que as mutações TTRVal71Ala e TTRAsp38Tyr foram descritas previamente na literatura por nosso grupo. A mutação TTRAsp38Tyr é uma mutação nova, descrita pela primeira vez na literatura numa família brasileira, após extensa pesquisa na literatura científica (LAVIGNE-MOREIRA, 2015). Já a mutação TTRlle107Val foi descrita no Brasil pela primeira vez por Cruz (2012), em pacientes aparentemente sem ligação genealógica com a família com esta mutação desse estudo. Desta maneira, acrescentamos uma mutação não-TTRVal30Met, a TTRVal122Ile, àquelas já conhecidas, na investigação diagnóstica de ATTR na população brasileira.

Na avaliação de 448 pacientes que foram encaminhados ao nosso serviço para a investigação de uma neuropatia periférica, em 6 pacientes (4,7% do total de pacientes com mutação TTR) foi identificado uma mutação não TTRVal30Met não patogênica: 5 pacientes com a mutação TTRGly6Ser e 1 paciente com a mutação Thr119Thr. Após pesquisa na literatura médica e contato com outros centros médicos, não foi encontrada descrição prévia de mutação não patogênica no Brasil.

A TTRGly6Ser é considerada um polimorfismo não amiloidogênico e que pode estar associada a hipertiroxinemia eutireoidea familiar (CONNORS, 2003; SEKIJIMA, 2012). Foi descrita pela primeira vez em um paciente israelense com FAP-TTR, no qual o sequenciamento genético demonstrou a presença de duas mutações num mesmo alelo – TTRPhe33Ile e TTRGly6Ser - e o potencial amiloidogênico foi atribuído à primeira mutação apenas (JACOBSON 1, 1994).

A outra mutação não patogênica encontrada na nossa população, TTRThr119Thr, resultou da troca de nucleotídeos (ACG>ACA), sem gerar uma mudança do aminoácido (Thr>Thr). Não foi encontrada descrição desta mutação na literatura médica e nós a classificamos como polimorfismo, uma vez que não houve modificação na estrutura final da TTR. Entretanto, os testes de avaliação da estabilidade desta TTR variante in vitro, visando sua comparação com a TTR selvagem e, por fim, a determinação de sua amiloidogenicidade, não foram realizados. A natureza não amiloidogênica da TTRThr119Thr também é corroborada pelo reconhecimento de uma outra mutação de ponto no mesmo resíduo do gene TTR, TTTThr119Met, já bem caracterizada como não amilodogênica e que pode estar associada a hipertiroxinemia eutireoidea familiar (HARRISON, 1991; SCRIMSHAW, 1992; CONNORS, 2003; SEKIJIMA, 2012)

5.2. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO NÃO TTRMET30 PATOGÊNICO

5.2.1. TTRAsp38Tyr

A mutação TTRAsp38Tyr é uma mutação nova que foi encontrada em duas irmãs, que apresentaram um início tardio (após os 50 anos) do quadro clínico e história familiar positiva. Uma das irmãs apresentou-se com uma neuropatia sensitivo-motora axonal, principalmente de fibras finas, associado a disautonomia e cardiomiopatia. Esta apresentação clínica (início tardio, neuropatia de fibras finas e cardiomiopatia) assemelha-se àquela de pacientes com mutações no mesmo resíduo 38 do gene TTR, TTRAsp38Ala e TTRAsp38Val (YAZAKI, 2000; LACHMANN, 2002; CHO, 2012) e possivelmente constitui o padrão típico de apresentação em pacientes com uma mutação TTR nesta posição.

A outra paciente tinha uma neuropatia com envolvimento predominante de fibras grossas, inferido pela apalestesia e ausência da sensibilidade cinético-postural, fraqueza proximal e distal proporcionais e arreflexia. Estes achados neurológicos sugeriam a existência de uma neuropatia desmielinizante, o que foi comprovado na segunda ENMG realizada pela paciente. Adicionalmente, havia constipação, mas não havia evidência de cardiomiopatia. A neuropatia desmielinizante não é um achado comum em pacientes com FAP-TTR, mas a presença de disautonomia e história familiar positiva deve conduzir a uma investigação nesta direção, mesmo com a biópsia tecidual negativa para a presença de depósitos amilóides (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2007)

5.2.2. TTRlle107Val

Os pacientes com a mutação TTRlle107Val eram parentes de primeiro grau (pai e filho), sendo o filho assintomático na ocasião em que foi avaliado. O pai iniciou suas manifestações após os 50 anos (início tardio da doença), com uma síndrome do túnel do carpo bilateral, seguido por uma neuropatia sensitivo-motora axonal com disautonomia e uma história familiar positiva. Inicialmente, como havia um envolvimento motor proximal e distal proeminente, apesar de pior distalmente, associado a arreflexia, recebeu o diagnóstico de PIDC, sem resposta satisfatória a corticoterapia endovenosa, imunoglobulina humana endovenosa e terapia imunossupressora.

Cruz (2012) relatou duas famílias brasileiras com FAP-TTRlle107Val, em que os três pacientes sintomáticos eram do sexo masculino, com início tardio da doença e apresentavam-se clinicamente com uma neuropatia sensitivo-motora e autonômica com disfunção cardíaca, similarmente ao quadro clínico observado em nosso paciente, exceto pela ausência da cardiomiopatia. Ainda à semelhança do nosso paciente, um destes pacientes relatado por Cruz (2012) foi tratado inicialmente como PIDC, em virtude do grande comprometimento da função motora.

A TTRlle107Val é uma mutação rara com pouco casos relatados no mundo, além do Brasil (França, Alemanha, Japão e África). O seu fenótipo assemelha-se a apresentação clínica do paciente do estudo e caracteriza-se por predileção pelo sexo masculino e por uma neuropatia sensitivo-motora, sem dissociação da sensibilidade e com quadro motor proeminente, associado

a síndrome do túnel do carpo, disautonomia e alteração cardíaca (cardiomiopatia e/ou alteração da condução cardíaca) (JACOBSON 2, 1994; UOTANI, 2006; CASSEREAU, 2008; ASAHINA, 2011; MARIANI, 2015). Como os pacientes, em geral, apresentam-se com um quadro mais rapidamente progressivo e severo, com tetraparesia proximal e distal, podem receber erroneamente o diagnóstico de PIDC (MARIANI, 2015).

5.2.3. TTRVal71Ala

A mutação TTRVal71Ala foi descrita em apenas um paciente brasileiro, que está incluído na casuística deste estudo (MARQUES, 2010). Trata-se de um caso esporádico em que paciente do sexo masculino apresentou-se, antes dos 50 anos, inicialmente com uma neuropatia de fibras finas, evoluindo para uma neuropatia sensitivo-motora, com dissociação da sensibilidade, e disautonomia. Não apresentou envolvimento cardiovascular ao longo de sua evolução. Em investigação inicial, a ENMG evidenciou uma neuropatia sensitivo-motora com velocidades intermediárias, sendo tratado para PIDC com corticoterapia oral, sem resposta. Após o diagnóstico de FAP-TTRVal71Ala, quando estava num estágio TTR-FAP 2 / PND IIIa foi tratado com o TOF. Aproximadamente 3,5 anos após o TOF, apresentou opacidades vítreas por depósitos amilóides e evoluiu com piora do quadro neurológico. Após 6 anos do TOF, estava cadeirante (estágio TTR-FAP 3 / PND IV), com disfonia,

disfagia e incontinência urinária, evoluindo para óbito em 2 anos por complicações infecciosas.

A caracterização fenotípica da FAP-TTRVal71Ala é embasada em relatos de casos isolados em diferentes países, com algumas variações entre as diferentes famílias, mas, via de regra, apresenta-se como uma neuropatia de início precoce, similar a apresentação clássica da FAP-TTRVal30Met de início precoce, com dissociação da sensibilidade e acompanhada por disautonomia, mas com uma incidência maior de opacidades vítreas. Almeida (1993), descreveu uma família espanhola com início das manifestações na terceira década de vida, com uma neuropatia sensitivo-motora, acompanhada de constipação e perda de peso. Benson (1993) e Suan (2012) relataram famílias francesa e australiana, respectivamente, com fenótipo similar, associado a presença de opacidades vítreas. Haagsma (2000), descreveu uma família irlandesa, cuja única diferença foi o início tardio da doença, na quinta década de vida.

As opacidades vítreas do paciente relatado neste estudo apareceram 3,5 anos após o transplante, fato que pode ser resultante da maior incidência destas alterações oculares associadas a TTRVal71Ala, conforme descrito acima, somado à manutenção da produção da TTR variante pelo epitélio pigmentar da retina mesmo após o TOF (ERICZON, 2015).

O TOF apresenta uma excelente sobrevida para os pacientes com FAP-TTRVal71Ala, com sobrevida de 85% em 10 anos (SUHR, 2016). Possivelmente, a deterioração precoce do quadro clínico do nosso paciente e óbito em 8 anos pode estar relacionado a instituição do tratamento num estágio

já avançado da doença, que é reconhecidamente fator de mal prognóstico após o TOF (ERICZON, 2015).

5.2.4. TTRVal122Ile

Não dispomos dos dados clínicos do paciente com a mutação TTRVal122Ile.

A frequência desta mutação varia com a etnia, com uma prevalência de estimada de 3-4% em afro-americanos, 0,44% em caucasianos e 0% em hispânicos e outras etnias, incluindo asiáticos (HAMIDI, 2001; YAMASHITA, 2005). A penetrância estimada da doença é de aproximadamente 20% (MAURER, 2016).

O fenótipo associado a TTRVal122Ile é a FAC-TTR e apresenta-se como uma cardiopatia restritiva em pacientes com 60 anos ou mais (início tardio) (SEKEJIMA, 2015). Tipicamente, o paciente é idoso, negro, com insuficiência cardíaca progressiva, sem história de doença arterial coronariana. O quadro cardiovascular pode ser precedido pela síndrome do túnel do carpo e, adicionalmente, o paciente pode ter sinais/sintomas de neuropatia (dor neuropática, parestesia, hipoestesia e dificuldade para deambular), em proporções menores que às aquelas observadas nos pacientes com a TTRVal30Met (YAMASHITA, 2005; MAURER, 2016).

5.3. CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO TTRMET30

A caracterização do grupo TTRMet30 incluiu 52 pacientes brasileiros com FAP-TTRVal30Met atendidos no serviço de neurogenética do HC da FMRP-USP no período de julho de 1997 a janeiro de 2016, cujos dados clínicos e de exames complementares estavam disponíveis para a avaliação retrospectiva. Destes pacientes, 39 (75%) tiveram início precoce e 13 (25%) início tardio. Esta análise foi feita em complementação àquela realizada em 2008, que incluiu os primeiros 35 pacientes atendidos nesse centro, sendo 26 (74,2%) pacientes com início precoce e 9 (25,8%) com início tardio (OLIVEIRA, 2008).

No grupo TTRMet30 de início precoce, a idade média de início dos sintomas foi de 32,5 anos, 53,8% eram homens a história familiar foi positiva em 92,3% dos pacientes. Por sua vez, o grupo TTRMet30 de início tardio teve uma idade média de início dos sintomas de 63 anos, 92,3% eram homens e a história familiar foi positiva em 69,2%. A idade média de início dos sintomas foi similar a encontrada entre pacientes portugueses, japoneses e franceses (início precoce: 33,1anos, 31,9 anos, 32 anos; início tardio: 59,5 anos, 62,5anos, 64anos; respectivamente) e a história familiar positiva também foi mais frequente nos pacientes com início precoce nestas populações. Houve um maior número de casos aparentemente esporádicos no grupo de início tardio. No Japão e na França, assim como nos dados deste estudo, não há predileção por gênero no grupo de início precoce e observa-se um franco predomínio do sexo masculino entre aqueles de início tardio. Em Portugal, a

predominância do sexo masculino do grupo TTRMet30 de início tardio não foi observado (CONCEIÇÃO E CARVALHO, 2007; KOIKE, 2012; MARIANI, 2015). Bittencourt et al (2005) descreveu o fenótipo de 44 pacientes brasileiros com FAP-TTRVal30Met de início precoce com idade média de início dos sintomas de 32 anos e 45% do total eram do sexo masculino, confirmando mais uma vez os nossos achados.

A manifestação clínica inicial foi significativamente diferente entre os dois grupos. O grupo TTRMet30 de início precoce inaugurou o quadro clínico mais frequentemente com sintomas de uma neuropatia de fibras finas (28 pacientes; 71,8%). Se considerarmos conjuntamente os sintomas iniciais relacionados às fibras mielínicas finas e amielínicas (neuropatia de fibra finas (71,8%), disautonomia (10,3%) e a combinação dos dois (7,7%)), esse padrão corresponderá à 89,8% do total de pacientes deste grupo. O grupo TTRMet30 de início tardio teve como manifestação inicial uma neuropatia de fibras finas e disautonomia em 30,8% e 15,4% do total, respectivamente. Apenas neste grupo, o sintoma motor foi encontrado como uma manifestação inicial da doença (2 pacientes, 15,4%). Desta forma, concluímos que o grupo TTRMet30 de início precoce manifesta-se inicialmente com uma neuropatia de fibras finas e autonômica e que no grupo TTRMet30 de início tardio os sintomas motores aparecem mais precocemente, resultando numa neuropatia sensitivo-motora com acometimento de fibras grossas, resultados estes que reproduzem os achados de estudos feitos em diferentes populações (CONCEIÇÃO e CARVALHO, 2007; CARR, 2015, MARIANI, 2015)

Não houve diferença estatisticamente significante no intervalo de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico entre os dois grupos (média de 3,89

anos para o grupo TTRMet30 de início precoce e de 3,76 anos para o grupo TTRMet30 de início tardio), permitindo uma comparação da apresentação clínica na primeira consulta, sem que haja o viés do tempo de evolução da doença. Na avaliação clínica na primeira consulta, não houve diferença estatisticamente significativa no envolvimento sensitivo, tanto de fibras finas, quanto de fibras grossas, entretanto o grupo TTRMet30 de início tardio mostrou um risco 7,5 vezes maior de apresentar acometimento motor na avaliação inicial. Koike, et al (2012) avaliou a história natural de pacientes com FAP-TTRMet30 de início tardio procedentes de áreas não endêmicas e descreveu que, uma vez que os sintomas neuropáticos foram percebidos, os sintomas sensitivos e motores em membros inferiores e superiores progredem num período de tempo curto de menos de 1,5 anos e que o aparecimento dos sintomas nos membros superiores tende a ser mais precoce, comparado com os pacientes com FAP-TTRVal30Met de início precoce. Mariani et al (2015) encontrou resultados similares, em que a disfunção de fibras grossas é mais grave e mais precoce nos pacientes com a doença de início tardio, marcada pela alteração da sensibilidade profunda, perda de força muscular e ROT ausentes. Neste estudo, foi observado um envolvimento sensitivo de fibras grossas significativamente maior no grupo de início tardio, resultado não observado em nossa população, e que pode estar associado ao menor tempo de duração da doença na avaliação inicial no estudo francês (intervalo de 2,8 anos para TTR de início tardio e de 1,8 anos para TTR de início precoce, $p=0,1273$).

Todos os pacientes avaliados em ambos os grupos apresentaram disautonomia em algum momento da evolução da doença e não houve

diferença estatisticamente significativa entre eles. As alterações gastrointestinais foram as mais frequentes. A grande maioria dos estudos com estes grupos de pacientes demonstrou que as disfunções autonômicas são mais graves e prevalentes nos pacientes com FAP-TTR de início precoce (PLANTÉ-BOURDENEUVE, 2011), diferindo do que ocorreu no nosso trabalho. No estudo de Conceição e Carvalho (2007), 65,1% dos indivíduos com início precoce apresentaram alguma forma de disautonomia, contra 16,2% daqueles com início tardio. Koike et al (2002) também relataram um predomínio deste tipo de manifestação entre pacientes com início precoce. A grande maioria dos pacientes com início precoce avaliados por Bittencourt et al (2005) apresentou algum tipo de disfunção autonômica, sendo que em 96% deles essa disfunção foi alteração gastrintestinal (constipação e/ou diarreia).

Quanto ao padrão neurofisiológico do acometimento do sistema nervoso periférico, apenas pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce tiveram a primeira ENMG normal, estando em concordância com o que foi visto na população estudada por Mariani et al (2015). Este resultado vai ao encontro dos achados clínicos acima descritos, nos quais os pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce iniciam a doença mais frequentemente com uma neuropatia de fibras finas e autonômicas e com sintomas motores ausentes ou de menor gravidade na primeira avaliação. Um estudo realizado em uma população japonesa demonstrou que a extensão da redução do CMAP e, principalmente, do SNAP foi mais pronunciada nos pacientes com TTR-FAPVal30Met de início tardio, mesmo após se considerar o declínio destes índices com o envelhecimento, refletindo uma tendência ao envolvimento de

fibras nervosas de todas as modalidades (fibras finas e grossas), em correspondência com o quadro clínico (KOIKE, 2008).

Aproximadamente 21% do total de pacientes do grupo TTRMet30 inicialmente tiveram uma apresentação clínica atípica, com achados que causaram confusão diagnóstica com PIDC, plexopatia lombossacra e doença do neurônio motor inferior.

Sinais de desmielinização nos estudos neurofisiológicos foram encontrados em 5 (17.2%) pacientes no grupo TTRMet30 de início precoce e em 3 (33,3%) pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio. No grupo TTRMet30 de início precoce, todos os 5 pacientes preencheram os critérios neurofisiológicos definitivos para PIDC. Já no grupo TTRMet30 de início tardio, 2 pacientes preencheram critérios neurofisiológicos definitivos para PIDC e 1 paciente apresentou sinais de desmielinização com reduções intermediárias da velocidade de condução. Planté-Bordeneuve et al (2007) descreveram que 18 pacientes de um total de 90 com 4 diferentes mutações (TTRVal30Met, TTRSer77Tyr, TTRIle107Val e TTRAla91Ser) foram diagnosticados como PIDC e receberam tratamento com corticoterapia e imunoglobulina humana endovenosa. Destes, 7 pacientes tinham hiperproteinorraquia, 8 tinham redução acentuada da velocidade de condução e em 11 a biópsia tecidual falhou em mostrar depósitos amilóides. Mathis et al (2012) relataram 5 pacientes com neuropatia amiloide (3 com FAP-TTRMet30 e 2 com amiloidose adquirida) que foram tratados inicialmente como PIDC. Dados recentes do estudo de MARIANI et al (2015) evidenciaram que estes sinais de desmielinização estão presentes em ambos os grupos de pacientes com FAP-TTRMet30, de início precoce e tardio, sendo mais frequentes neste último

grupo, confirmando os nossos dados. Neste estudo francês, 63% dos pacientes de início tardio tinham sinais de desmielinização na ENMG e 47% preenchem os critérios definitivos da EFN/PNS 2010 para PIDC. No grupo com início precoce, 35% tinham sinais de desmielinização na ENMG e 25% preenchem os critérios definitivos para PIDC. Conclui-se que deve haver uma alta suspeição para FAP-TTR nos pacientes diagnosticados com PIDC, associados com disautonomia e história familiar positiva para uma neuropatia periférica, e que não estão respondendo ao tratamento imunomodular e/ou imunossupressor, mesmo se biópsia tecidual não demonstrou a presença de material amiloide (PLANTÉ-BORDENEUVE, 2007; CONCEIÇÃO, 2016).

Um dos pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio, com história familiar positiva, apresentou um quadro clínico atípico com início assimétrico de parestesias e dor neuropática em membros inferiores, pior à direita, acompanhado de parestesia em ambas as mãos. Seguiu-se o aparecimento de disfunção sexual. Sua ENMG demonstrou a presença de STC bilateral e uma neuropatia axonal e assimétrica em membros inferiores, pior à direita, a qual denominamos de um padrão de pseudoplexo lombossacro. Essa denominação é justificada pelo acometimento mais grave dos músculos distais dos membros inferiores. À época do diagnóstico molecular, não foi realizado estudo de imagem do plexo lombossacro, nem biópsia de nervo periférico. A apresentação da PAF-TTR com manifestações focais já é reconhecida, devido a distribuição randômica do material amiloide, com seu acúmulo ao longo dos plexos, além de nervos cranianos e tronco de nervo periférico (SAID & PLANTÉ-BORDENEUVE, 2012). Antoine et al (1991) descreveu um paciente de 25 anos com quadro progressivo de uma neuropatia periférica assimétrica,

com envolvimento dos membros interiores com fraqueza apenas nos músculos mais distais, associado a impotência sexual intermitente. Estudos de imagem demonstraram a presença de alargamento das raízes lombossacras, plexo lombossacro e parte proximal do nervo ciático. A biópsia do plexo sacral revelou a presença de depósitos amilóides endoneurais, mas a valiação imunohistoquímica falhou em determinar a proteína precursora.

Outras duas apresentações atípicas foram observadas em dois pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce, em que um apresentou um quadro sugestivo de doença do neurônio motor inferior, associado a disautonomia, e outro uma neuropatia de acentuado predomínio motor, também com disautonomia e ainda com alterações da condução cardíaca. Este fenótipo de doença do neurônio motor ou de uma neuropatia de predomínio motor já foi descrito na literatura em associação com várias mutações de pontos diferentes do gene TTR (RIBOLDI, 2011; SALVI, 2012; LOZERON, 2013; GOYAL, 2015). A suspeita inicial de doença do neurônio motor foi baseada, principalmente, no envolvimento de nervos craniano, com disfagia e disartria, na presença de atrofia de língua e na observação de fasciculações (GOYAL, 2015). Sinais e sintomas de alerta que levaram a investigação de PAF-TTR com biópsia tecidual e estudo genético foram presença de história familiar positiva, disautonomia, acometimento sensitivo (clínico ou subclínico apenas com alterações eletroneuromiográficas) e envolvimento multissistêmico (como por exemplo, alteração da condução cardíaca e cardiomiopatia) (RIBOLDI, 2011; SALVI, 2012; LOZERON, 2013; GOYAL, 2015).

Por fim, houve diferença entre os dois grupos quanto ao envolvimento cardíaco. A maioria dos pacientes do grupo TTRMet30 de início precoce (84,2%) e todos os pacientes do grupo TTRMet30 de início tardio que foram avaliados apresentaram alguma alteração da condução cardíaca, não havendo diferença entre os grupos. Entretanto, a presença de cardiomiopatia amiloide foi significativamente maior no grupo de início tardio. Os pacientes com FAP-TTRMet30 de início tardio pertencentes a outras populações, principalmente os do sexo masculino, tendem a apresentar mais frequentemente a cardiomiopatia infiltrativa, em concordância com nossos dados (KOIKE, 2004; SURH, 2006; HÖRNSTEN, 2010; PLANTÉ-BORDENEUVE, 2011).

6. CONCLUSÕES

1. A população estudada foi composta por 90,6% de pacientes com a mutação TTRMet30, 4,7% com a mutação não TTRMet30 patogênico e 4,7% com a mutação não TTRMet30 não patogênico;
2. No grupo TTRMet30, 75% dos pacientes tiveram de início precoce e 25% início tardio. A idade média de início dos sintomas no grupo TTRMet30 de início precoce foi de 32,75 anos e 53,8% eram homens. No grupo de início tardio a idade média de início dos sintomas foi de 63 anos e 92,3% eram homens;
3. O grupo TTRMet30 de início precoce apresentou-se sem predileção de gênero, com neuropatia de fibras finas e autonômica, história familiar positiva e alterações da condução cardíaca. Por outro lado, o grupo de início tardio mostrou uma predominância do sexo masculino, uma neuropatia sensitivo-motora com acometimento de fibras grossas, história familiar negativa e presença de cardiomiopatia. Todos os pacientes, em ambos os grupos, tiveram disautonomia em algum momento do seu seguimento clínico;
4. Aproximadamente 21% do total de pacientes do grupo TTRMet30 tiveram uma apresentação clínica atípica com achados que causaram confusão diagnóstica com PIDC, plexopatia lombossacra e doença do neurônio motor inferior.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D. "Hereditary and acquired amyloid neuropathies." *J Neurol*(2001);248:647-657.

ADAMS, D.; LOREZON, P.; LACROIX, C. "Amyloid neuropathies." *Curr Opin Neurol*(2012);25:564-572

ADAMS, D; CAUQUIL, C.; THEAUDIN, M.; ROUSSEAU, A.; ALGALARRONDO, V.; SLAMA, M. S. "Current and future treatment of amyloid neuropathies." *Expert Rev Neurother*(2014);14:1437-1451

ADAMS, D.; SUHR, O. B.; HUND, E.; OBICI, L.; TOURNEV, I.; CAMPISTOL, J. M.; SLAMA, M. S.; HAZENBERG, B. P.; COELHO, T.; EUROPEAN NETWORK FOR TTR-FAP (ATTReuNET). "First European consensus for diagnosis, management, and treatment of transthyretin famial amyloid polyneuropathy." *Curr Opin Neurol*(2016);29:14-16

ALMEIDA, M. DO R.; LOPEZ-ANDREU, F.; MUNAR-QUÉS, M.; COSTA, P. P.; SARAIVA, M. J. "Transthyretin ALA 41: A New Transthyretin variant in a Spanish Family With Familial hyloidotic Polyneuropathy." *Hum Mutat*(1993);2:420-421

ANDO, Y.; COELHO, T.; BERK, J.L.; CRUZ, M.V.; ERICZON, B.G.; IKEDA, S.; LEWIS, W.D.; OBICI, L.; PLANTÉ-BORDENEUVE, V.; RAPEZZI, C.; SAID, G.; SALVI, FABRIZIO. "Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians." *Orphanet J Rare Dis*(2013);8:31

ANDRADE, C. "A peculiar form of peripheral neuropathy; familiar atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves." *Brain*(1952);75:408-427

ANTOINE, J. C.; BARIL, A.; GUETTIER, C.; BARRAL, F. G.; BADY, B.; CONVERS, P.; MICHEL, D. "Unusual amyloid polyneuropathy with predominant lumbosacral nerve roots and plexus involvement." *Neurology*.(1991);41:206-8

ASAHINA, M.; AKAOGI, Y.; MISAWA, S.; KANAI, K.; ANDO, Y.; SAKAKIBARA, R.; ARAI, K.; HATTORI, T.; KUWABARA, S. "Sensorimotor manifestations without autonomic symptoms in two siblings with TTR Val107 familial amyloid polyneuropathy." *Clin Neurol Neurosurg*(2011);113:139-141

ARAKI, S.; MAWATARI, S.; OHTA, M.; NAKAJIMA, A.; KUROIWA, Y. "Polineuritic amyloidosis in a Japanese family." *Arch Neurol*(1968);18:593-602

BENSON, M. D. 2ND; TURPIN, J. C.; LUCOTTE, G.; ZELDENRUST, S.; LECHEVALIER, B.; BENSON, M. D. "A transthyretin variant (alanine 71) associated with familial amyloidotic polyneuropathy in a French Family." *J Med Genet*(1993);30:120-122

BENSON, M. D.; KINCAID, J.C. "The molecular biology and clinical features of amyloid neuropathy," *Muscle Nerve*(2007);36:411-423

BENSON, M.D. "Pathogenesis of transthyretin amyloidosis". *Amyloid*(2012);19:14-15

BERK, J. L.; SUHR, O. B.; OBICI, L.; SEKIJIMA, Y.; ZELDENRUST, S. R.; YAMASHITA, T.; HENEGHAN, M. A.; GOREVIC, P. D.; LITCHY, W. J.; WIESMAN, J. F.; NORDH, E.; CORATO, M.; LOZZA, A.; CORTESE, A.; ROBINSON-PAPP, J.; COLTON, T.; RYBIN, D. V.; BISBEE, A. B.; ANDO, Y.; IKEDA, S.; SELDIN, D. C.; MERLINI, G.; SKINNER, M.; KELLY, J. W.; DYCK, P. J.; DIFLUNISAL TRIAL CONSORTIUM. "Repurposing diflunisal for familial amyloid polyneuropathy: a randomized clinical trial." *JAMA*(2013);310:2658-2667

BITTENCOURT, P. L.; COUTO, C. A.; CLEMENTE, C.; FARIAS, A. Q.; PALÁCIOS, S. A.; MIES, S.; GOLDBERG, A. C. "Phenotypic expression of familial amyloid polyneuropathy in Brazil." *Eur J Neurol*(2005);12:289-293.

CARR, A. S.; PELAYO-NEGRO, A. L.; EVANS, M. RB.; LAURÀ, M.; BLAKE, J.; STANCANELLI, C.; IODICE, V.; WECHALEKAR, A. D.; WHELAN, C. J.; GILMORE, J. D.; HAWKINS, P. N.; REILLY, M. M. "A study of the neuropathy associated with transthyretin amyloidosis (ATTR) in the UK." *J Neurol Neurosurg Psychiatry*(2015);0:1-8

CASSEREAU, J.; LAVIGNE, C.; LETOURNEL, F.; GHALI, A.; VERNY, C.; DURBAS, F.; DEVIÈRE, F.; NICOLAS, G. "Hereditary amyloid neuropathy by transthyretin Val107 mutation in a patient of African origin." *J Peripher Ner Syst*(2008);13:251-254

COELHO, T.; MAIA, L. F.; MARTINS DA SILVA, A.; WADDINGTON CRUZ, M.; PLATÉ-BORDENEUVE, V.; LOREZON, P.; SUHR, O. B.; CAMPISTOL, J. M.; CONCEIÇÃO, I. M.; SCHMITD, H. H.; TRIGO, P.; KELLY, J. W.; LABAUDINIÈRE, R.; CHAN, J.; PACKMAN, J.; WILSON, A.; GROGAN, D. R. "Tafamidis for familial amyloid polyneuropathy: a randomized, controlled trial." *Neurology*(2012);79:785-792

CONCEIÇÃO, I. and DE CARVALHO, M. "Clinical variability in type I familial amyloid polyneuropathy (Val30Met): comparison between late- and early-onset cases in Portugal." *Muscle Nerve*(2007);35:116-118.

CONCEIÇÃO, I. "Clinical features of TTR-FAP in Portugal." *Amyloid* (2012);19:71-72

CONCEIÇÃO, I.; COSTA, J.; CASTRO, J.; CARVALHO, M. "Neurophysiological techniques to detect early small-fiber dysfunction in transthyretin amyloid polyneuropathy." *Muscle Nerve*(2014);49:181-186

CONCEIÇÃO, I.; GONZALEZ-DUARTE, A.; OBICI, L.; SCHIMIDT, H. H.; SIMONEAU, D.; ONG, M. L.; AMASS, L. " "Red-flag" symptom clusters in transthyretin familial amyloid polyneuropathy." *J Peripher Nerv Syst*(2016);21:5-9

CONNORS, L.H.; LIM, A.; PROKAEVA, T.; ROSKENS, V.A.; COSTELLO, C. E. "Tabulation of human transthyretin (TTR) variants, 2003." *Amyloid: J. Protein Folding Disord*(2003);10:160-184

COSTA, J.; SWASH, M.; DE CARVALHO, M. "Awaji criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review." *Arch Neurol*(2012);69:1410-6.

CRUZ, M. W. "Regional differences and similarities of familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) presentation in Brazil." *Amyloid*(2012);19:65-67

DE CARVALHO, M.; DENGLER, R.; EISEN, A.; ENGLAND, J.D.; KIMURA, J.; MILLS, K.; MITSUMOTO, H.; NODERA, H.; SHEFNER, J.; SWASH, M. "Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS." *Clin Neurophysiol*(2008);119:497-503.

ERICZON, B.G.; Wilczek, H. E.; LARSSON, M.; WIJAYATUNGA, P.; STANGOU, A.; PENA, J. R.; FURTADO, E.; BARROSO, E.; DANIEL, J.; SAMUEL, D.; ADAM, R.; KARAM, V.; POTERUCHA, J.; LEWIS, D.; FERRAZ-NETO, B. H.; CRUZ, M. W.; MUNAR-QUES, M.; FABREGAT, J.; IKEDA, S.; ANDO, Y.; HEATON, N.; OTTO, G.; SUHR, O. "Liver transplantation for hereditary transthyretin amyloidosis: after 20 years still the best therapeutic alternative?" *Transplantation*(2015);99:1847-1854

FERREIRA, P.; DANT'ANNA, O.; VAREJÃO, N.; LIMA, C.; NOVIS, S.; BARBOSA, R. V.; CALDEIRA, C. M.; RUMJANEK, F. D.; VENTURA, S.; CRUZ, M. W.; FOGUEL, D. "Structure-base analysis of a A19D, a variant of transthyretin involved in familial amyloid cardiomyopathy." *PLoS One* (2013);8:e82484.

GONZÁLEZ-DUARTE, A.; SOTO, K. C.; MARTÍNÉZ-BAÑOS, D.; ARTEAGA-VAZQUEZ, J.; BARRERA, F.; BERENQUER-SANCHEZ, M.; CANTU-BRITO, C.; GARCÍA-RAMOS, G.; ESTAÑOL VIDAL, B. "Familial amyloidosis with polyneuropathy associated with TTR Ser50Arg. Mutation." *Amyloid*(2012);19:171-176

GONZÁLEZ-DUARTE, A.; LEM-CARRILO, M.; CÁRDENAS-SOTO, K. "Description of transthyretin S50A, S52P and G47A mutations in familial amyloidosis polyneuropathy." *Amyloid*(2013);20:221-225

GOYAL, N. A.; MOZAFFAR, T. "Tongue atrophy and fasciculations in transthyretin familial amyloid neuropathy." *Neurol Genet*(2015);1:e18

HAAGSMA, E. B.; SCHEFFER, H.; ALTLAND, K.; DE JAGER, A. E.; HAZENBERG, B. P. "Transthyretin Val71Ala mutation in a Dutch family with familial amyloidotic polyneuropathy." *Amyloid*(2000);7:218-221

HAMIDI ASL, K.; NAKAMURA, M.; YAMASHITA, T.; BENSON, M. D. "Cardiac amyloidosis associated with the transthyretin Ile122 mutation in a Caucasian Family." *Amyloid*(2001);8:263-269.

HAWKINS, P. N.; ANDO, Y.; DISPENZERI, A.; GONZALEZ-DUARTE, A.; ADAMS, D.; SUHR, O. B. "Evolving landscape in the management of transthyretin amyloidosis." *Ann med*(2015);47:8:625-638

HARRISON, H. H.; GORDON, E. D.; NICHOLS, W. C.; BENSON, M. D. "Biochemical and clinical characterization of prealbumin CHICAGO: na

apparently benign variant of serum prealbumin (transthyretin) discovered with high resolution two-dimensional electrophoresis." *Am J Med Genet*(1991);39:442-452

HERRICK, M. K.; DeBRUYNE, K.; HOROUPIAN, D. S.; SKARE, J.; VANEFSKY M. A.; ONQ, T. "Massive leptomeningeal amyloidosis associated with a Val30Met transthyretin gene." *Neurology*(1986);47:988-992

HÖRNSTEN, R.; PENNLERT, J.; WIKLUND, U.; LINDQVIST, P.; JENSEN, S. M.; SUHR, O.B. "Heart complications in familial transthyretin amyloidosis: impact of age and gender." *Amyloid*(2010);17:63-8

HUND, E; LINKE, R. P.; WILLIG, F.; GRAU, A. "Transthyretin- associated neuropathic amyloidosis – Pathogenesis and treatment." *Neurology*(2001);56:431-435

IKEDA, S.; NAKAZATO, M.; ANDO, Y.; SOBUE, G. "Familial transthyretin-type amyloid polyneuropathy in Japan – clinical and genetic heterogeneity." *Neurology*(2002);58:1001-1007

IKEDA, S.; TAKEI, Y.; TOKUDA, T.; NAKAZATO, M.; ANDO, Y. " Clinical and pathological findings of non-Val30Met TTR type familial amyloid polyneuropathy in Japan." *Amyloid: J Folding Disord*(2003);10:39-47

JACOBSON, D. R.; BUXBAUM, J. N. "A double-variant transthyretin allele (Ser 6, Ile 33) in the Israeli patient "SKO" with familial amyloidotic polyneuropathy." *Hum Mutat* (1994);3:254-260

JACOBSON, D. R.; GERTZ, M. A.; BUXBAUM, J. N. "Transthyretin VAL107, a new variant associated with familial cardiac and neuropathic amyloidosis" *Hum Mutat* (1994);3:399-401

JANUNGER, T.; ANA, I.; HOLMGREN, G.; LÖVHEIM, O.; OHLSSON P. I.; SUHR, O. B.; TASHIM, K. "Heart failure caused by a novel amyloidogenic mutation of the transthyretin gene: ATTR Ala45Ser." *Amyloid*(2000);7:137-140

JOINT TASK FORCE OF THE EFNS AND THE PNS. "European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. Report of a joint task

force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *J Peripher Nerv Syst*(2005);10:220-8.

KOIKE, H.; MISU, K.; IKEDA, S.; ANDO, Y.; NAKAZATO, M.; ANDO, E.; YAMAMOTO, M.; HATTORI, N.; SOBUE, G.; STUDY GROUP FOR HEREDITARY NEUROPATHY IN JAPAN. "Type 1 (transthyretin Met30) familial amyloid polyneuropathy in japan: early- vs late-onset form." *Arch Neurol* (2002);59:1771-1776

KOIKE, H.; MISU, K.; SUGIURA, M.; IJIMA, M.; MORI, K.; YAMAMOTO, M.; HATTORI, N.; MUKAI, E.; ANDO, Y.; IKEDA, S.; SOBUE, G. "Pathology of early- vs late-onset TTR Met30 familial amyloid polyneuropathy." *Neurology*(2004);63:129-138.

KOIKE, H.; KAWAGASHIRA, Y.; IJIMA, M.; YAMAMOTO, M.; HATTORI, N.; TANAKA, F.; HIRAYAMA, M.; ANDO, Y.; IKEDA, S.; SOBUE, G. "Electrophysiological features of late-onset transthyretin Met30 familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci." *J Neurol*(2008);255:1526-1533

KOIKE, H.; SOBUE, G. "Late-onset familial amyloid polyneuropathy in Japan." *Amyloid*(2012);19:55-57.

LAVIGNE-MOREIRA, C.; MARQUES, V. D.; LOURENÇO, C. M.; CABRINI, D. I.; NUNEZ, J. C.; HERRERA, R. F.; MAQRUES, W. JR. "Transthyretin Aps38Tyr: a new mutation associated to a late onset neuropathy." *J Peripher Nerv Syst* (2015);20:60-62.

LEFAUCHEUR, J. P.; WAHAB, A.; PLANTÉ-BORDENEUVE, V.; SÈNE, D.; MÈNARD-LEFAUCHEUR, I.; ROUIE, D.; TEBBAL, D.; SALHI, H.; CRÉANGE, A.; ZOUARI, H.; NG WING TIN, S. "Diagnosis of small fiber neuropathy: A comparative study of five neurophysiological tests." *Neurophysiol Clin* (2015);45:445-455

LOZERON, P.; LACROIX, C.; THEAUDIN, M.; RICHER, A.; GUGENHEIM, M.; ADAMS, D.; MISRAHI, M. "An amyotrophic lateral sclerosis-like syndrome revealing an amyloid polyneuropathy associated with a novel transthyretin mutation." *Amyloid*(2013);20:188-92

MARIANI, L. L.; LOZERON, P.; THÉAUDIN, M.; MINCHEVA, Z.; SIGNATE, A.; DUCOT, B.; ALGALARRONDO, V.; DENIER, C.; ADAM, C.; NICOLAS, G.; SAMUEL, D.; SLAMA, M. S.; LACROIX, C.; MISRAHI, M.; ADAMS, D.; FRENCH FAMILIAL AMYLOID POLYNEUROPATHIES NETWORK

(CORNAMYL) STUDY GROUP. "Genotype-phenotype correlation and course of transthyretin familial amyloid polineuropathies in France." *Ann Neurol*(2015);78:901-916

MARQUES, W. JR; BORGHETTI, V. S.; MARQUES, V. D.; NEDER, L.; RUIZ, F. B. J.; BARREIA, A. A. "Clinical and electrophysiological correlates of TTRala71 amyloid neuropathy." *Arq Neuropsiquiatr*(2010);68:303-305.

MAURER, M. S.; HANNA, M.; GROGAN, M.; DISPENZIERI, A.; WITTELES, R.; DRACHMAN, B.; JUDGE, D. P.; LENIHAN, D. J.; GOTTLIEB, S. S.; SHAH, S. J.; STEIDLEY, D. E.; VENTURA, H.; MURALI, S.; SILVER, M. A.; JACOBY, D.; FEDSON, S.; HUMMEL, S. L.; KRISTEN, A. V.; DAMY, T.; PLANTÉ-BORDENEUVE, V.; COELHO, T.; MUNDAYAT, R.; SUHR, O. B.; WADDINGTON CRUZ, M.; RAPEZZI C; THAOS INVESTIGATORS. "Genotype and phenotype of transthyretin cardiac amyloidosis: THAOS (Transthyretin Amyloid Outcome Survey)." *J Am Coll Cardiol*(2016);68:161-172.

OLIVEIRA, M. F. "Caracterização fenotípica dos casos de polineuropatia amiloidótica familiar TTRMet30 de início tardio." Dissertação. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

PARMAN, Y.; ADAMS, D.; OBICI, L.; GALÁN, L.; GUERQUELTICHEVA, V.; SUHR, O. B.; COELHO, T.; EUROPEAN NETWORKFOR TTR-FAP (ATTReuNET). "Sixty years of transthyretin familial amyloid polyneuropathy (TTR-FAP) in Europe: where are we now? A european network approach to defining the epidemiology and management patterns for TTR-FAP." *Curr Opin Neurol*(2016);29 Suppl 1: S3-S13

PLANTÉ-BORDENEUVE, V.; LALU, T.; MISRAHI, M.; REILLY, M. M.; ADAMS, D.; LACROIX, C.; SAID, G. " Genotypic-phenotypic variations in a series of 65 patients with familial amyloid polyneuropathy." *Neurology*(1998);51:708-714

PLANTÉ-BORDENEUVE, V.; GERARD, S. "Familial amyloid polyneuropathy." *Lancet Neurol*(2011);10:1086-1097

QUEIROZ, M.C.; PEDROSA, R.C.; BERENSZTEJN, A.C.; PEREIRA, B. DE B.; NASCIMENTO, E.M.; DUARTE, M.M.; PEREIRA-JUNIOR, P.P.; CRUZ, M.M. "Frequency of cardiovascular involvement in familial amyloidotic polyneuropathy in brazilian patients." *Arq Bras Cardiol*(2015)105:503-509.

OBICI, L.; KUKS, J. B.; BUADES, J.; ADAMS, D.; SUHR, O. B.; COELHO, T.; KYRIAKIDES, T.; EUROPEAN NETWORK FOR TTR-FAP (ATTReuNET).

“Recommendations for presymptomatic genetic testing and management of individuals at risk for hereditary transthyretin amyloidosis.” *Curr Opin Neurol*(2016);29:27-35

RIBOLDI, G.; DEL BO, R.; RANIERI, M.; MAGRI, F.; SCIACCO, M.; MOGGIO, M.; BRESOLIN, N.; CORTI, S.; COMI, G. P. “Tyr78Phe Transthyretin Mutation with Predominant Motor Neuropathy as the Initial Presentation.” *Case Rep Neurol*(2011)3:62-8

SAID, G & PLANTÉ-BORDENEUVE. “TTR-familial amyloid polyneuropathy – neurological aspects.” *Amyloid*(2012);19:25-27

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);19:58-60.

SAPORTA, M.A.; ZAROS, C.; CRUZ, M.V.; ANDRÉ, C.; MISRACHI, M.; BONAÏTI-PELLIÉ, C.; PLANTÉ-BORDENEUVE, V. “Penetrance estimation of TTR familial amyloid polyneuropathy (type I) in brazilian families. *Eur J Neurol*(2009);16 337-341

SAPORTA, A.S.; SOTTILE, S.L.; MILLER, L.J.; FEELY, S.M.; SISKIND, C.E.; SHY, M.E. “Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies.” *Ann Neurol*(2001);69:22-33.

SEKIJIMA, Y.; KELLY, J.W.; IKEDA, S. “Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidosis.” *Current Pharmaceutical Design*(2008);14:3219-3230

SEKIJIMA, Y.; Yoshida, K.; Tokuda, T.; Ikeda, S. “Familial Transthyretin Amyloidosis.”(January 2012) in: *GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource* [database online] Copyright, University of Washington, Seattle 1993-2016. <http://www.ncbi.nlm.gov/books/NBK1194>.

SEKIJIMA, Y. “Transthyretin (ATTR) amyloidosis: clinical spectrum, molecular pathogenesis and disease-modifying treatments.” *J Neurol Neurosurg Psychiatry*(2015);86:1036-1043.

SCRIMSHAW, J. B.; FELLOWES, A. P.; PALMER, B. N.; CROXSON, M. S.; STOCKIGT, J. R.; GEORGE, P. M. "A novel variant of transthyretin (prealbumin), Thr119 to Met, associated with increased thyroxine binding." *Thyroid*(1992);2:21-26

SWIECICKI, P. L.; ZHEN, D. B.; MAUERMANN, M. L.; KYLE, R. A.; ZELDENRUST, S. R.; GROGAN, M.; DISPENZIERI, A.; GERTZ, M. A. "Hereditary ATTR amyloidosis: a single-institution experience with 266 patients." *Amyloid*(2015);22:123-131

SUAN, D.; BOOTH, D. R.; KENNEDY, I. H.; DOWNIE, J.; EARLS, P.; GOTTLIEB, D.; STEWART, G. J.; LIN, M. W. "Vitreous deposits in Val71Ala transthyretin amyloidosis." *Intern Med J*(2012);42:106-108

SUHR, O.B.; SVENDSEN, I. H.; ANDERSSON, R.; DANIELSSON, A.; HOLMGREN, G.; RANLOV, P. J. "Hereditary transthyretin amyloidosis from a Scandinavian perspective." *J Intern Med*(2003);254:225-235

SUHR, O. B.; LINDQVIST, P.; OLOFSSON, B. O.; WALDENSTRÖM, A.; BACKMAN, C. "Myocardial hypertrophy and function are related to age at onset in familial amyloidotic polyneuropathy." *Amyloid*(2006);13:154-9

SUHR OB¹, LARSSON M, ERICZON BG, WILCZEK HE; FAPWTR'S INVESTIGATORS. "Survival After Transplantation in Patients With Mutations Other Than Val30Met: Extracts From the FAP World Transplant Registry." *Transplantation*(2016);100:373-381

TAKEI, Y.; HATTORI, T.; YAZAKI, M.; TOKUDA, T.; URASAWA, N.; KANAI, S.; IKEDA, S. "Transthyretin Tyr69-to-Ile mutation (double-nucleotide substitution in codon 69) in a Japanese familial amyloidosis patient with cardiomyopathy and carpal tunnel syndrome." *Amyloid*(2003);10:25-28

UOTANI, K.; KAWATA, A.; NAGAO, M.; MIZUTANI, T.; HAYASHI H. "Trigger finger as an initial manifestation of familial amyloid polyneuropathy in a patient with Ile107Val TTR." *Intern Med*(2007);46:501-504

YAMASHITA, T.; HAMIDI, A. S. L. K.; YAZAKI, M.; BENSON, M. D. "A prospective evaluation of the transthyretin Ile122 allele frequency in an African-American population." *Amyloid*(2005);2:127-130.

ZAROS, C.; GENIN, E.; HELLMAN, U.; SAPORTA, M. A.; LANGUILLE, L.; WADINGTON-CRUZ, M.; SUHR, O.; MISRAHI, M.; PLANTÉ-BORDENEUVE, V. " On the origin of the transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy." *Ann Hum Genet*(2008);72:478-484

ZHEN, D. B.; SWIECICKI, P. L.; DISPENZIERI, A.; MAUERMANN, M. L.; GERTZ, M.A. "Frequencies and geographic distributions of genetic mutations in transthyretin- and non-transthyretin-related familial amyloidosis." *Clin Genet*(2015);88:396-400

ZHAO, L.; BUXBAUM, J.N.; REIXACH, N. "Age-related oxidative modifications of transthyretin modulate its amyloidogenicity." *Biochemistry*(2013);52:1913-1926