Amiloidose

Polineuropatia amiloidótica familiar

As doenças amiloidóticas

As **Amiloidoses** são um grupo de doenças definido pela presença de depósitos de proteína insolúvel (fibrilas) nos tecidos.

As **Polineuropatias Amiloidóticas Familiares (PAF)** estão englobadas nas Amiloidoses Hereditárias.

Existem 4 tipos de PAF:

- **PAF tipo I, de Andrade ou tipo Português**
- PAF tipo II, de Rukovina ou tipo Indiana
- PAF tipo III, de Van Alien ou tipo Iowa
- PAF tipo IV, de Meretoja ou tipo Finlandês

A descoberta…

Paramiloidose:

- surgida na região da Póvoa de Varzim/Vila do Conde, sendo agora predominante nas regiões piscatórias do norte e centro
- descrita pela primeira vez por Corino de Andrade, em 1952
- doença neurológica, progressiva e crónica
- doença hereditária de transmissão autossómica dominante

Prof. Dr. Corino de Andrade

Em Portugal, o maior foco da doença, existem mais de 600 famílias sob acompanhamento com mais de 2000 casos sintomáticos.

Sintomatologia

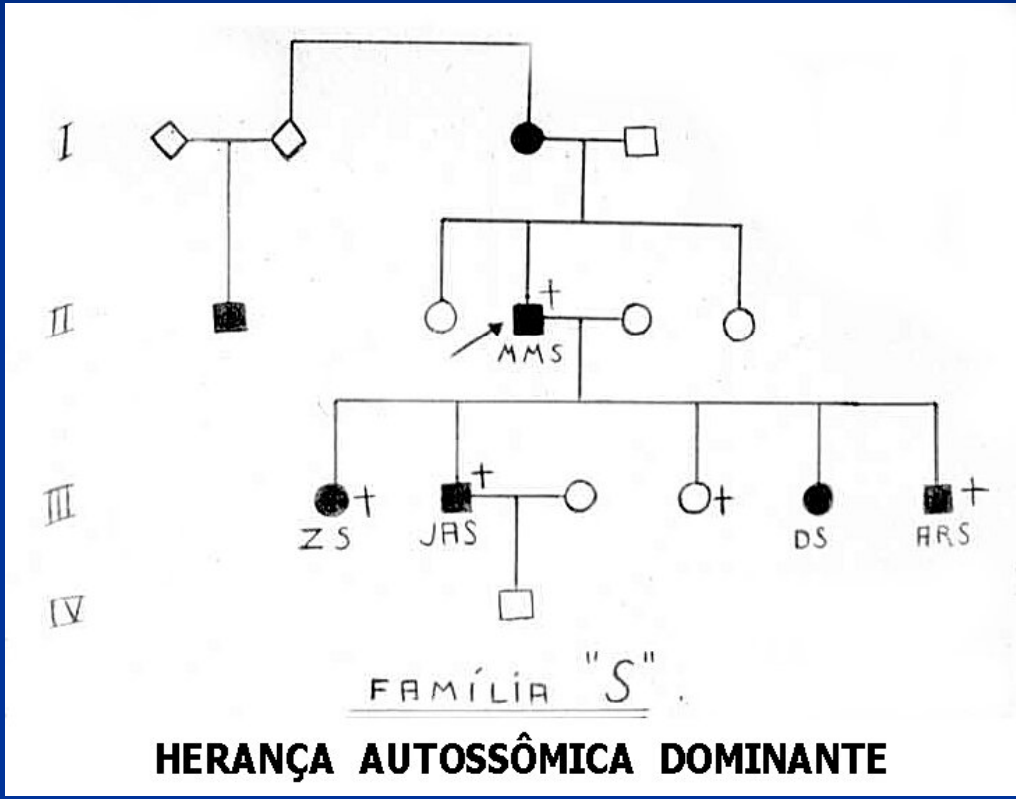
As manifestações da doença começam entre os 25 e os 35 anos

Conduz à morte em 10-12 anos

Caracteriza-se por:

- polineuropatia periférica (perda de destreza motora, de sensibilidade táctil e de dor)
- problemas cardíacos (hipotensão ortostática, diferentes arritmias, obstruções auriculoventriculares)
- disfunções eréctil e urinária
- disfunções gastro-intestinais
- disfunções renais (diminuição da filtração glomerular)
- perturbações oculares

Hereditariedade



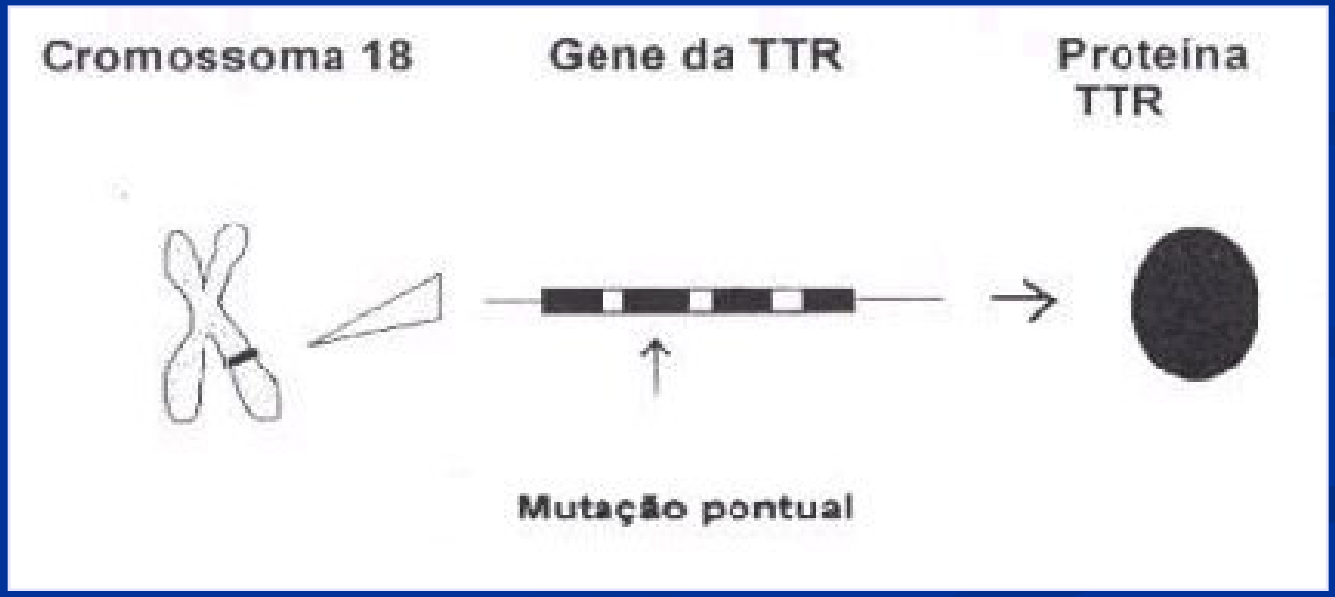
HERANÇA AUTOSSÔMICA DOMINANTE

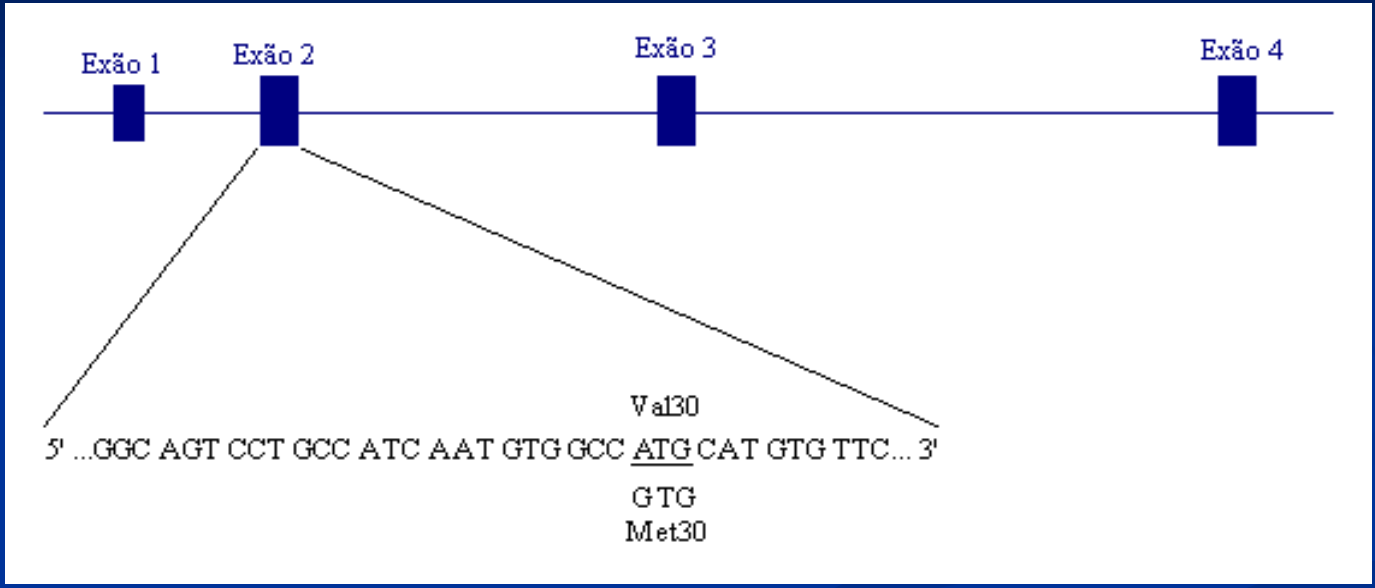
- Doença hereditária dominante
- **Homozigóticos (2 alelos mutados):** descendentes com 100% de probabilidade de contrair a doença
- **Heterozigóticos (apenas 1 alelo mutado):** descendentes com 50% de probabilidade de contrair a doença
- Indivíduos homozigóticos ou heterozigóticos não apresentam diferenças significativas nos sintomas, existindo homozigotas assintomáticos

A maior parte dos doentes com PAF são heterozigóticos.

Bases Genéticas

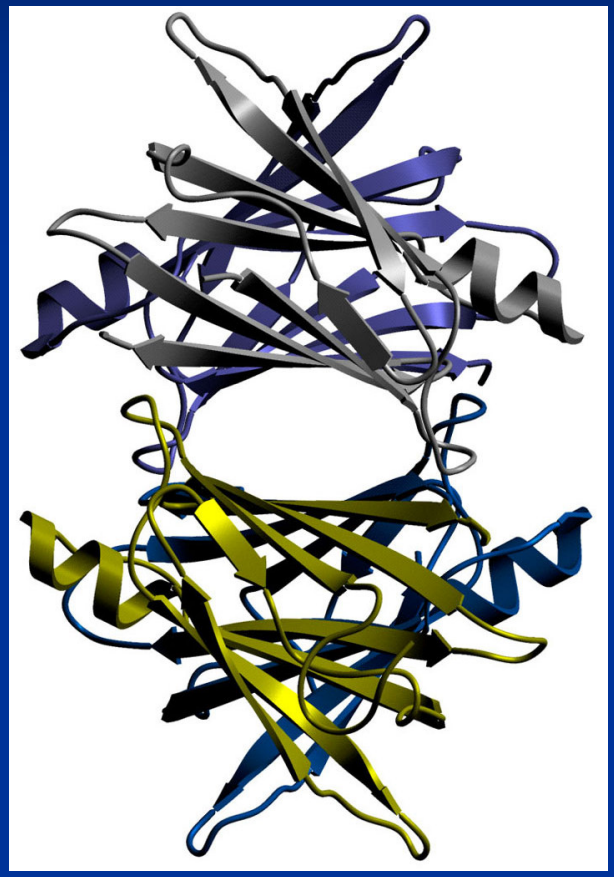
- A mutação ocorre no braço longo do cromossoma 18 do gene que codifica a transtirretina (TTR)





- Substituição duma **Guanina** por uma **Adenina**, levando à substituição de uma **Valina** original por uma **Metionina** na posição 30 da proteína (TTR Val30Met)

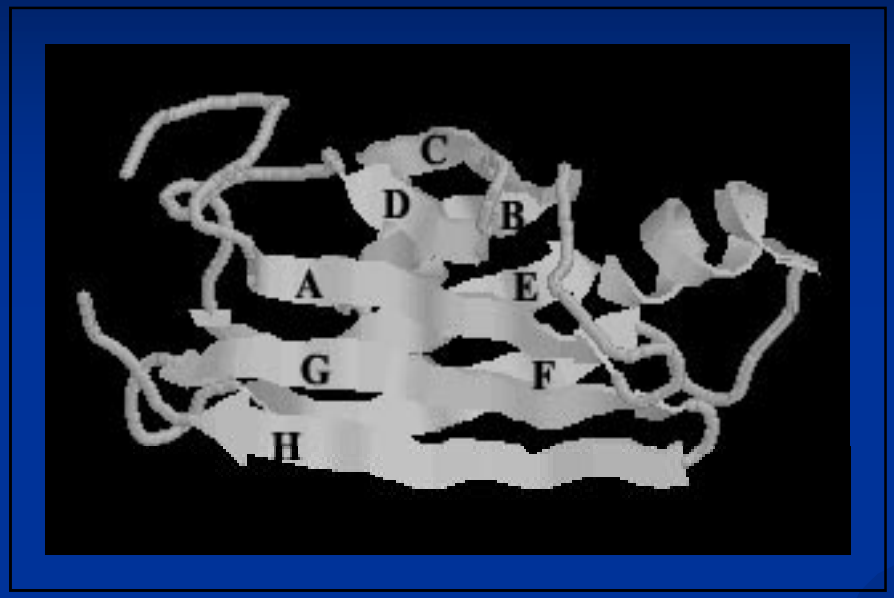
A Transtirretina (TTR)



Tetramero de TTR humano

- Produzida no fígado, plexos coroideus do cérebro e na retina
- Solúvel no plasma
- Estável nos tecidos

O monómero da TTR

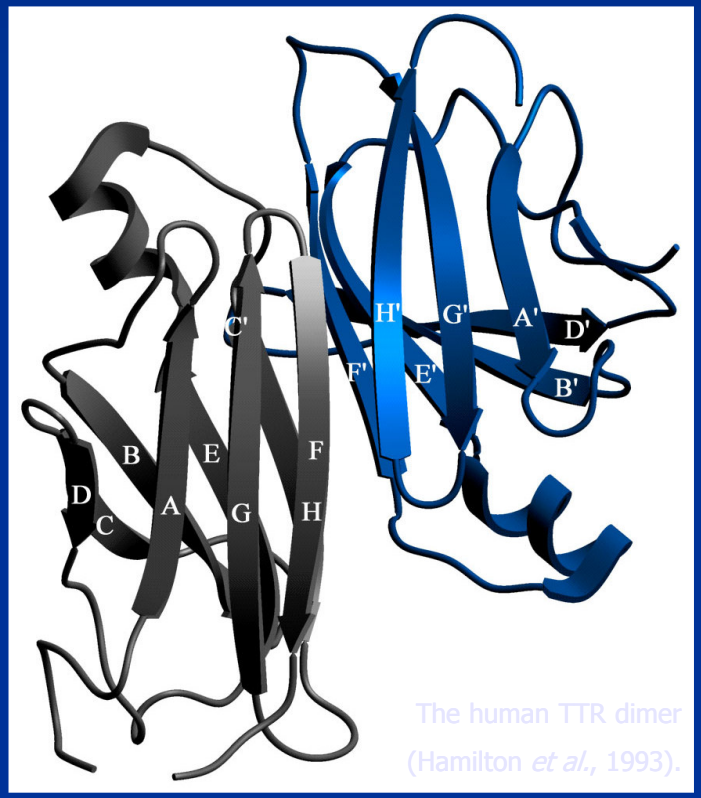


O monómero da TTR humana

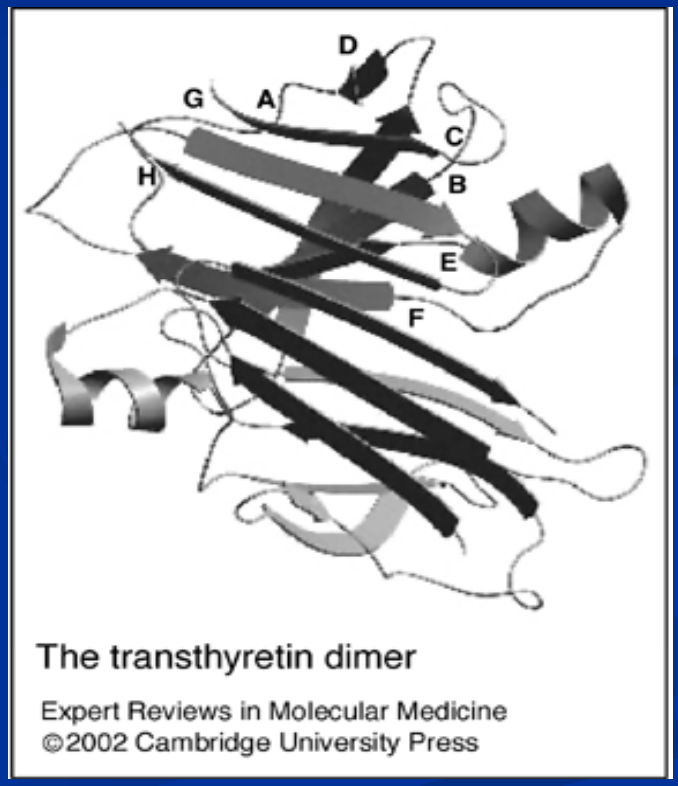
- Os monómeros são constituídos por 127 aminoácidos
- Cada um tem 14kDa
- Cada monómero de TTR é composto por 2 folhas pregueadas β, que por sua vez, são compostos por cadeias DAGH e CBEF, e uma pequena hélice α

O dímero da TTR

- Interações antiparalelas de cadeia β unem os monómeros em dímeros



The human TTR dimer (Hamilton *et al.*, 1993).

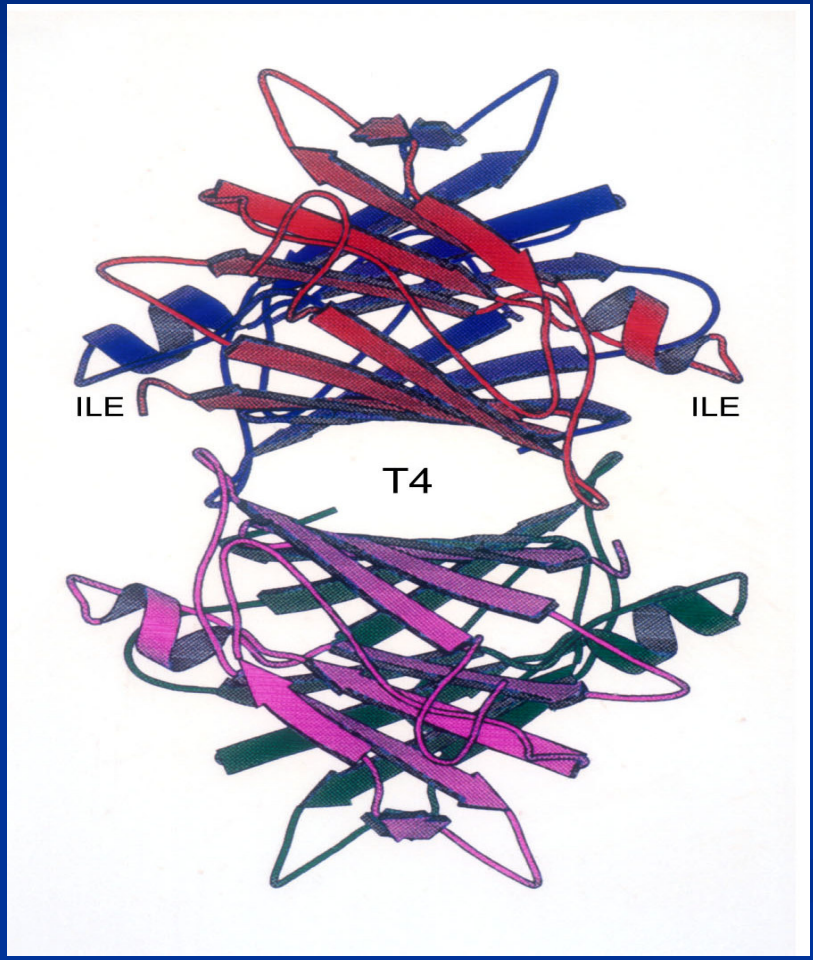


The transthyretin dimer

Expert Reviews in Molecular Medicine
©2002 Cambridge University Press

- Uma pequena ansa de cada monómero forma as interações principais dímero-dímero (pontes de hidrogénio, configuradas em β)

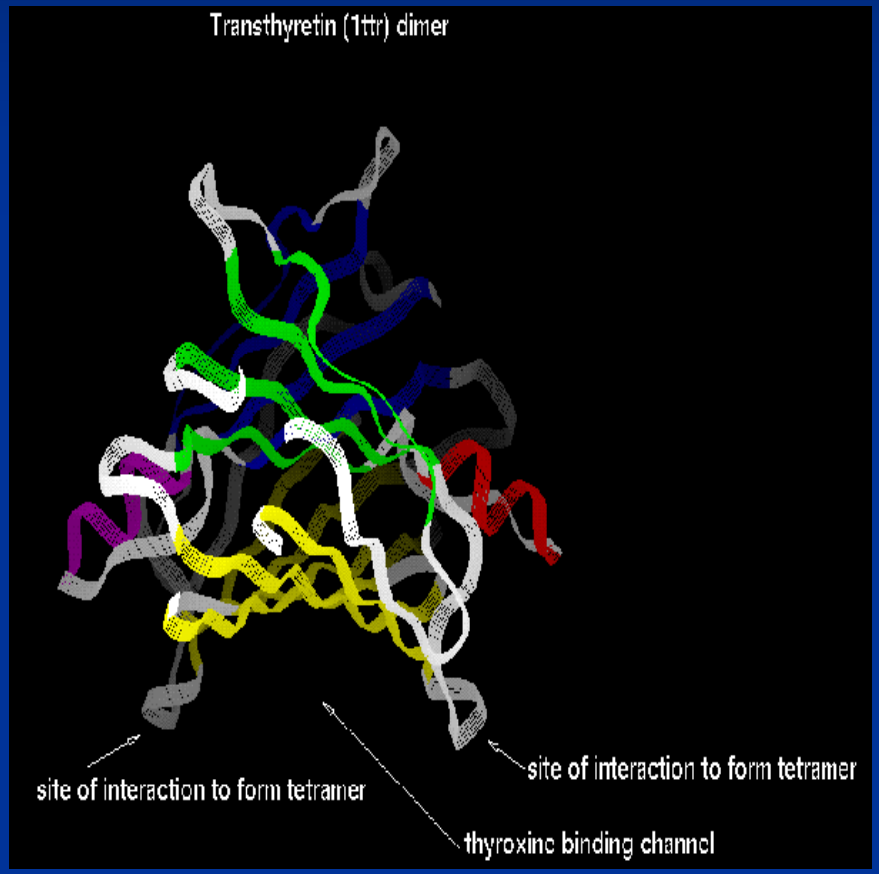
O tetrâmero de TTR



Da interacção dímero-dímero, resulta uma TTR (homotetramérica)

Cada tetrâmero, a unidade funcional da TTR, possui cerca de 56kDa

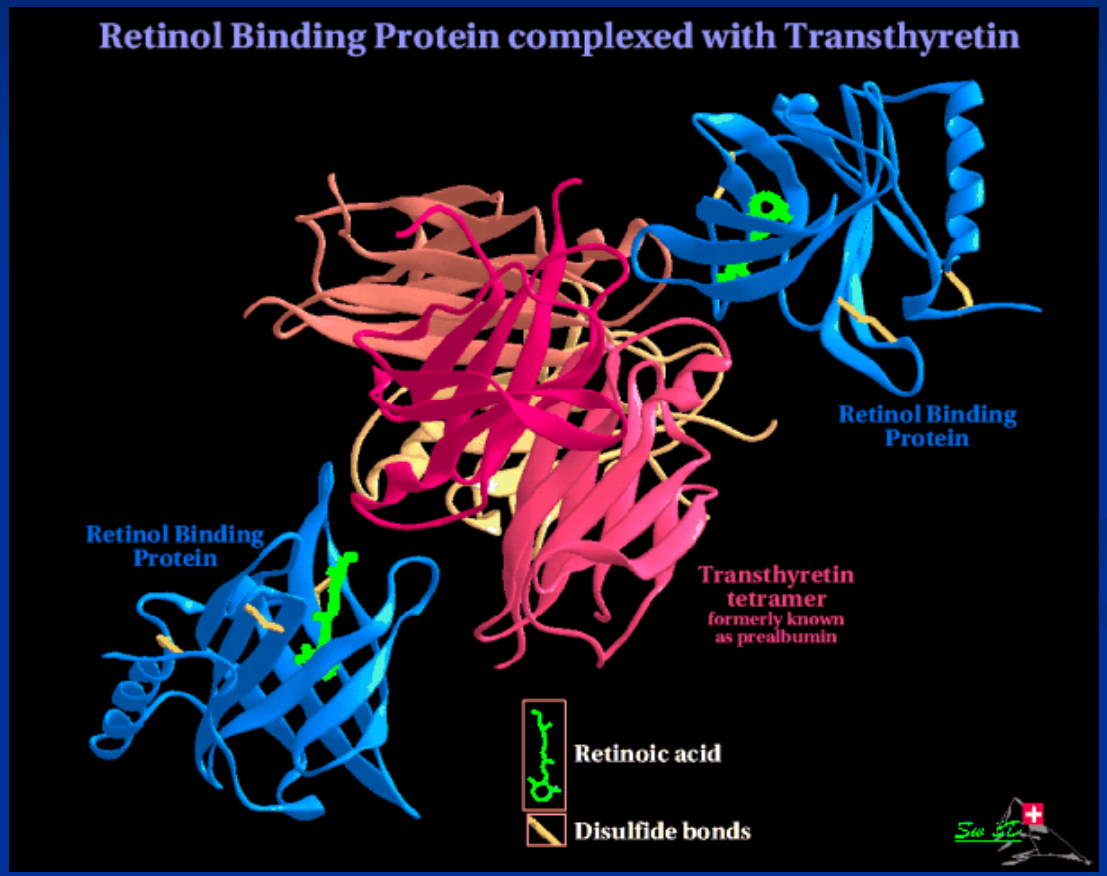
Funções da TTR



Envolvida no transporte de:

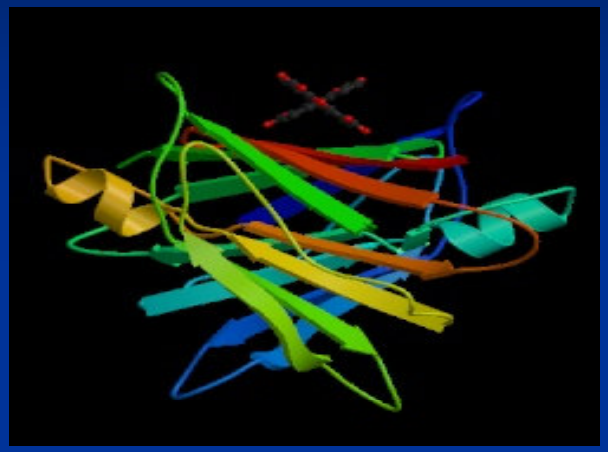
- Tiroxina (hormona da tiróide)
- Lípidos
- Uma proteína de ligação da vitamina A – "Retinol binding protein" (RBP)

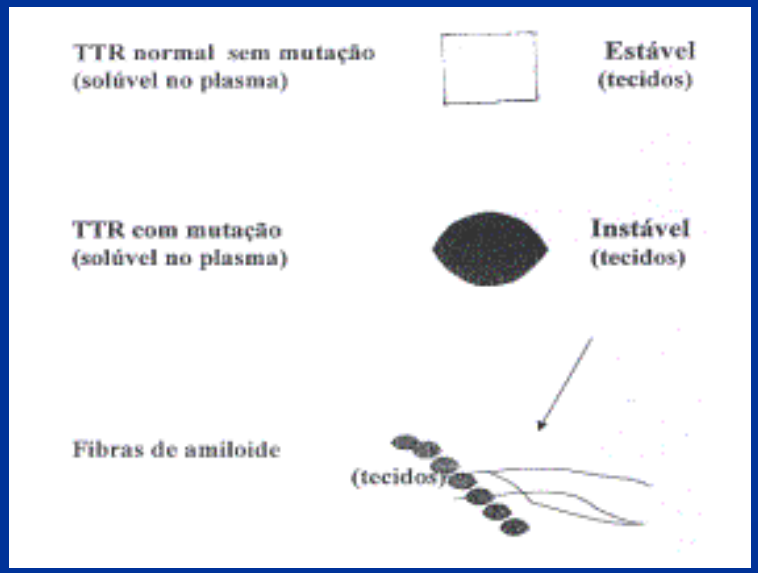
Associação com a RBP



- Duas RBP ligam-se a um tetrâmero de TTR
- A TTR permite a manutenção do "retinol binding protein" no plasma devido à diminuição da sua excreção pelo rim

A proteína mutada





Mutações da TTR

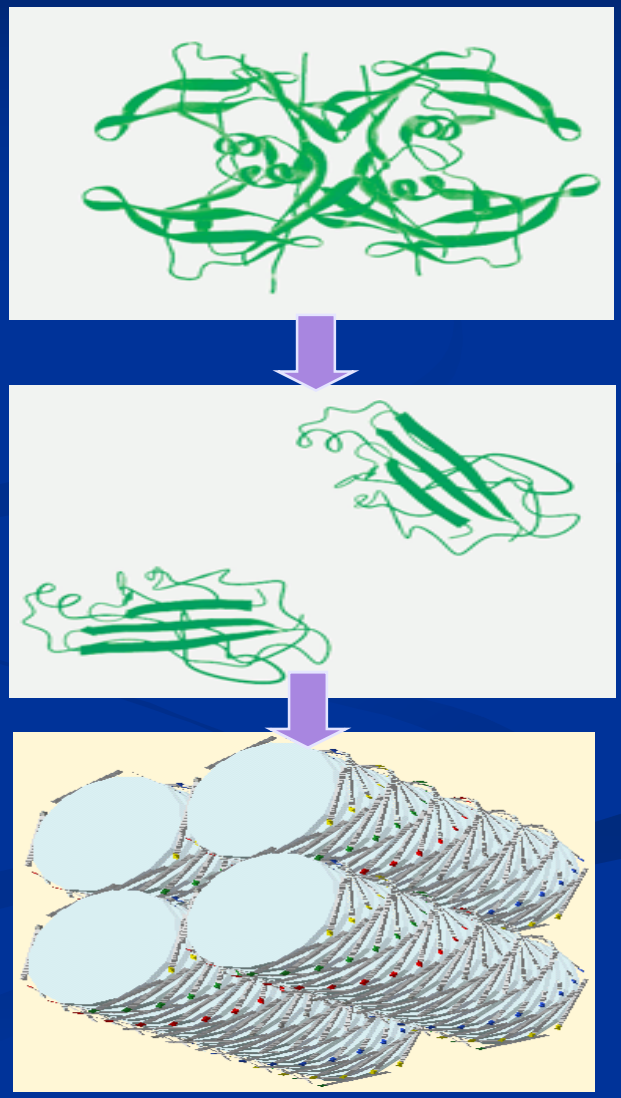
- **Val30Met** (+comum em Portugal)
- Leu55Pro
- Tyr78Phe
- Thr119Met (> estabilidade)

Alterações estruturais:

- Um aminoácido de valina é substituído por um aminoácido de metionina na posição 30
- Correspondência com a mutação genética em que ocorre a substituição do nucleotídeo
- Proteína solúvel no plasma, mas instável nos tecidos
- Polimerização da proteína e consequente deposição de fibras de amilóide

A TTR Met30

- Tetrâmero de Transtirretina composto exclusivamente por mutantes Val30Met associados à doença
- Dissocia-se nos seus monómeros
- Monómeros desdobram-se causando a formação de fibrilas amilóides.



Transplante Hepático

- A substituição de um fígado anormal produtor de TTR Met30 por um fígado normal diminui os altos níveis de proteína anormal no sangue

- O período de manifestação da doença antes do transplante parece ser um importante condicionante para o tratamento

- Há quem aconselhe a realização de transplantes duplos ou até triplos

Após o transplante…

Rápida normalização da temperatura nos pés e nas mãos

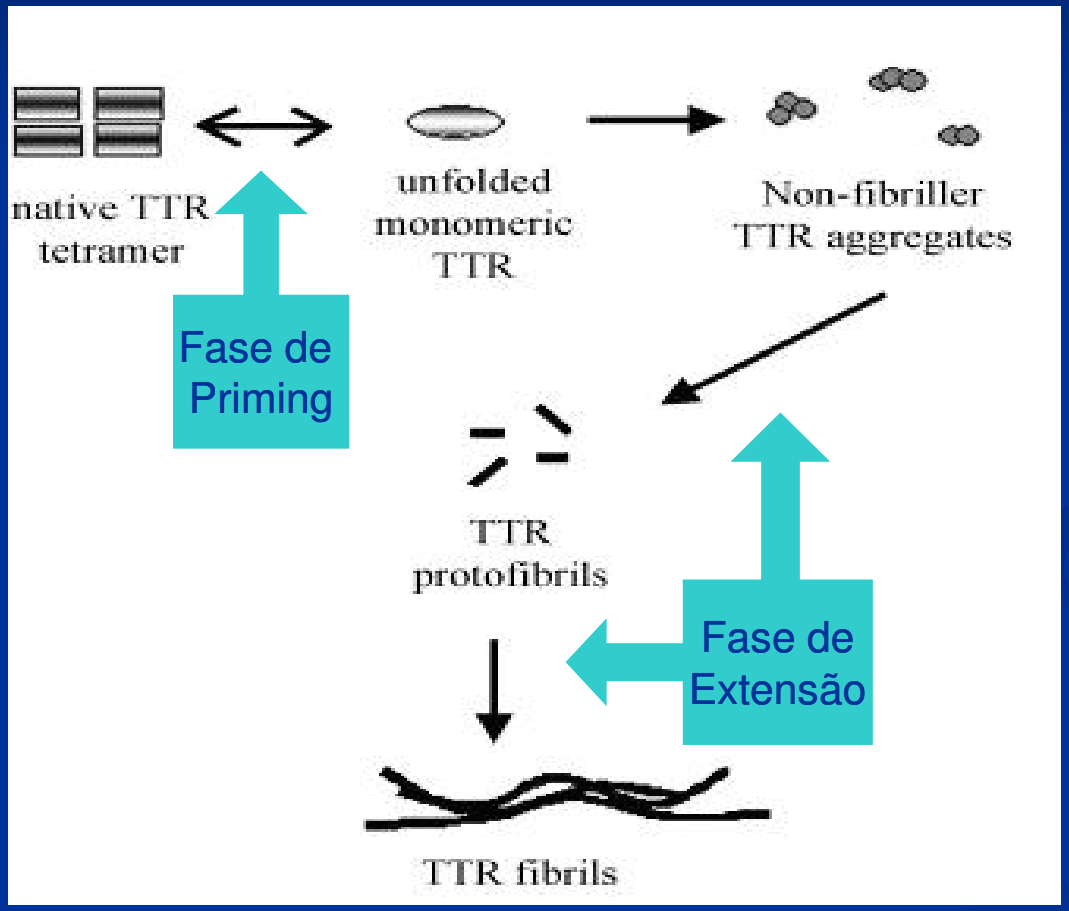
No primeiro ano após o transplante, há melhorias nos distúrbios sensitivos e autónomos

Não há melhoras na função motora ou nos danos nos órgãos

Em casos graves não há benefícios com o transplante hepático devido às graves lesões já existentes nos órgãos

A produção de TTR pelos plexos coroideos e retina não cessam com o transplante

Possibilidades para o futuro



Fase de Priming - impedir a dissociação do tetrâmero em monómeros, e consequente formação de espécies intermediárias (potencialmente amiloidogénicas)

Fase de Extensão - inibição da associação das espécies intermediárias e crescimento das fibras

Fase de Disrupção - desagregação de fibras já formadas

O evitar da transmissão da doença…

Pais com antecedentes familiares com PAF:

- Verificação se possui ou não o gene mutado
- Actualmente, existe já um método laboratorial directo de análise clínica

O Diagnóstico Pré-natal:

- É realizada uma amniocentese às 14/16 semanas de gravidez
- Se exame positivo, interrupção da gravidez por volta das 17 semanas
- Agressivo para os casais do ponto de vista ético, religioso e moral

Diagnóstico Genético Pré-Implantatório

- Combinação de diversas áreas de biotecnologia
  - fertilização *in vitro*
  - cultura de embriões e sua biopsia
  - diagnóstico genético ao nível de uma única célula
  - amplificação da região do gene com interesse por PCR
  - detecção da mutação por análise de restrição enzimática

1. Os embriões são criados em laboratório
2. Ao terceiro dia já devem ter entre 8 ou 12 células
3. Nessa altura faz-se uma biopsia, retirando-se duas células do embrião
4. Estas são analisadas geneticamente de forma independente
5. Passadas 42 horas tem-se o resultado
6. Se o diagnóstico for negativo, o embrião é implantado no útero da mãe

Taxa de sucesso de 20%.

Em Maio de 2003 nasceram dois gémeos, filhos de mãe portadora da doença. Foram a primeira prova do êxito deste procedimento.