

Enfermedad de Wilson: consideraciones fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas

F. Pérez-Aguilar

Servicio de Medicina Digestiva. Hospital La Fe. Valencia. España.

En 1912, Kinnier Wilson describe por primera vez en su tesis doctoral la «degeneración hepatolenticular» en la que se asociaban la cirrosis hepática y las alteraciones neurológicas secundarias a la degeneración lenticular en pacientes jóvenes¹.

La enfermedad de Wilson (EW) es autosómica recesiva, afecta al metabolismo del cobre que, al acumularse en cantidades excesivas en diferentes órganos, sobre todo en el hígado y el cerebro, puede originar múltiples manifestaciones clínicas, siendo transcendente su diagnóstico precoz, pues junto a la hemocromatosis es la única hepatopatía crónica con tratamiento específico muy eficaz, pudiéndose además evitar la aparición de graves secuelas neuropsiquiátricas. De no ser diagnosticada puede ser mortal a la edad de 50 años.

Su prevalencia varía ampliamente, pero es alrededor de 10 a 30 por millón de habitantes, siendo mayor en áreas con alta tasa de consanguinidad². Los portadores heterocigotos son uno de cada 90³. El riesgo de enfermar en hermanos de un paciente índice es del 40%, y el de los hijos del 0,5%.

GENÉTICA

El descubrimiento del gen *ATP7A* (homólogo al de la EW) responsable de la enfermedad de Menkes, otra rara enfermedad hereditaria del metabolismo del cobre, permitió en 1993 la identificación y clonación del gen de la EW denominado *ATP7B*⁴⁻⁶, localizado en la región 13q 14.3 del cromosoma 13, que codifica una trifosfatasa de adenosina (ATP-asa) de tipo P transportadora de cobre, que se comporta como una bomba de cobre, y cuya disfunción impide una correcta eliminación biliar del mismo.

El gen se expresa predominantemente en el hígado y los riñones, y menos en el cerebro, pulmón, corazón, músculo, páncreas y placenta, con una localización trans-Golgi. La región codificadora del gen tiene una longitud de 4,1 kb, con un ARN mensajero de aproximadamente 8 kb. La ATP-asa de tipo P consta de 1.443 aminoácidos, con una masa molecular de 160 kD. Se predice que hay 6 dominios fijadores de cobre, un dominio de fosforilización, una región fijadora de ATP, y 8 dominios transmembrana⁴. Los dominios fijadores del cobre, además de extraer el cobre de sus ligandos en el citoplasma de los hepatocitos antes de su excreción en la bilis, pueden actuar como sensores del cobre.

Se han descrito más de 200 mutaciones, siendo la más frecuente la His 1069Glu, que ocurre en el 70% de polacos y en el 60% de austriacos con EW^{7,8}, y entre el 10 y el 40% en pacientes de origen europeo o norteamericanos, detectándose sólo raramente en pacientes de India, Asia y Cerdeña; en el 60% de los pacientes de Cerdeña⁹ se encuentra una sola mutación consistente en la delección de 15 nucleótidos en el 5'UTR del gen de la EW. La mutación Asp 1270Ser se detecta en el 61% de pacientes de Costa Rica, asociándose a una forma fulminante de enfermedad¹⁰. La mayoría de los pacientes son heterocigotos compuestos, quedando por descubrir otras muchas mutaciones, por lo que el diagnóstico genético es muy complejo; falta por aclarar si hay relación entre las mutaciones detectadas y la expresión fenotípica. El estudio de familiares de un caso índice puede realizarse mediante el análisis del haplotipo, inspeccionando el tipo de polimorfismos del ADN en la región que rodea al gen de la EW, determinando si se han heredado las regiones mutantes entre los familiares del enfermo. Nuevos métodos estudian la casi totalidad de la región codificante del *ATP7B*. Futuros avances en el estudio del ADN harán posible el estudio para mutaciones específicas con un coste-eficacia razonables. Hoy día, el estudio genético sólo se efectúa en pocos laboratorios y limitándose al cribado familiar, como complemento de las pruebas clínicas y bioquímicas habituales.

Correspondencia: Dr. F. Pérez-Aguilar.
Servicio de Medicina Digestiva. Hospital La Fe.
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. España.

Recibido el 13-02-2002; aceptado para su publicación el 16-05-2002.

FISIOPATOLOGÍA

El cobre es un cofactor esencial para muchas enzimas (lisil oxidasa, superóxido dismutasa, tirosinasa, dopamina β -hidroxilasa, etc.) y proteínas, y es importante en la movilización tisular del hierro, el metabolismo oxidativo, la desintoxicación de radicales libres y la maduración del tejido conectivo¹¹. Se encuentra sobre todo en mariscos, nueces, productos de la soja, chocolate, etc. La ingestión diaria de cobre es de 1-3 mg, superior a los requerimientos del organismo, siendo regulado el cobre acumulado en el organismo mediante su excreción biliar. El cobre eliminado por la bilis no es reciclado por la circulación enterohepática, sino eliminado por las heces. La excreción fecal de cobre es de 1-3 mg/24 h. El cobre eliminado por la orina no suele ser superior a 50 μ g/24 h. El contenido corporal de cobre es de 50-150 mg. El cobre en exceso tiene un efecto lesivo, actuando como prooxidante y generando radicales libres que deplecionan los depósitos de glutatión, oxidan los lípidos, las enzimas y las proteínas del citoesqueleto, objetivándose que las membranas de las organelas, el ADN, los microtúbulos y varias enzimas y proteínas están alteradas¹².

El cobre se absorbe en el intestino proximal, siendo transportado vía portal fijado a la albúmina hasta los hepatocitos, donde es extraído por el gen transportador de superficie celular *hCTR1*¹³. El cobre intracelular en tejidos como el hígado o el intestino puede encontrarse unido a ligandos de bajo peso molecular, como el glutatión¹⁴, las metalotioneínas¹⁵ y el chaperone HAH1 (también denominado Atox1)¹⁶, que sirven como agentes de transferencia o de almacenamiento del cobre, y ulteriormente utilizado para los requerimientos metabólicos celulares, incorporarse a la ceruloplasmina, o ser excretado en la bilis.

La ceruloplasmina es una α_2 glucoproteína sérica que contiene más del 95% del cobre presente en la sangre. El gen de la ceruloplasmina está localizado en el cromosoma 3, siendo sintetizada como una apoproteína (apoceruloplasmina) primordialmente en el hígado, a la que se incorpora el cobre en el aparato de Golgi por mediación de la *ATP7B*¹⁷, siendo entonces vertida en la sangre como holoceruloplasmina, con 6 átomos de cobre por molécula. La concentración intracelular de cobre no afecta a la síntesis o secreción de apoceruloplasmina. Sin embargo, un fallo en la incorporación del cobre durante su biosíntesis da lugar a la secreción en el plasma de una apoproteína inestable. Su función parece involucrada en el transporte del cobre (cobre multioxidasa), en el metabolismo del hierro (ferroxidasa), como evidencia en la aceruloplasmínemia¹⁸ con importantes acumulaciones de hierro en múltiples órganos, y también tiene funciones antioxidantes.

Así pues, el *ATP7B* situado en el entramado trans-Golgi de los hepatocitos tiene dos acciones fundamentales, la de incorporar el cobre a la apoceruloplasmina y así poder transferirlo a la circulación sistémica ligado a la holoceruloplasmina, y la de excretarlo en la bilis. La concentración intracelular de altos valores de cobre hace que la proteína *ATP7B* se desplace desde la localización trans-Golgi a un compartimiento vesicular post-Golgi en la ve-

cididad de la membrana plasmática del canalículo biliar, siendo esta ruta vesicular crítica para la excreción biliar del cobre. Tras la acumulación del cobre en estas vesículas, la disminución del cobre citoplasmático ocasiona una redistribución de la *ATP7B* al entramado trans-Golgi y la excreción del cobre en la bilis¹⁹⁻²¹ (fig. 1). Recientes estudios efectuados en *Saccharomyces cerevisiae* sugieren una directa interrelación entre el *ATP7B* y el chaperone HAH1 o Atox1 como mecanismo esencial para el transporte del cobre en todas las células¹⁶; las mutaciones en los dominios fijadores del cobre del gen de la EW impiden esta interacción y alteran la homeostasis celular del cobre. La proteína ApoE, por sus propiedades fijadoras de cobre, antioxidantes y estabilizadoras de membrana, puede ayudar a que las manifestaciones clínicas de la EW aparezcan más tardíamente en pacientes con el genotipo ApoE ϵ_3/ϵ_3 ²².

En la EW, la incapacidad de ser incorporado el cobre para la biosíntesis de la holoceruloplasmina da lugar a un descenso de los valores séricos de ceruloplasmina secundaria a la rápida degradación de la apoproteína segregada²³. En la EW no llegan a presentarse los síntomas de la aceruloplasmínemia, debido a que la producción extrahepática de holoceruloplasmina es suficiente para proveer el 5% de la concentración normal sérica requerida para el reciclaje del hierro plasmático²⁴.

En la EW, aunque la mayoría tienen un déficit de ceruloplasmina, un 5-15% de pacientes pueden presentar concentraciones séricas normales. El déficit de ceruloplasmina no parece desempeñar un papel causal en las manifestaciones clínicas de esta enfermedad, siendo pues tan sólo un epifenómeno secundario a la disfunción del gen *ATP7B*, hipótesis avalada por: a) el gen de la ceruloplasmina está en el cromosoma 3, mientras que el de la EW está en el 13; b) algunos pacientes tienen concentraciones normales de ceruloplasmina; c) los valores de ceruloplasmina sérica no se correlacionan con la gravedad de los síntomas, y d) en ensayos terapéuticos con ceruloplasmina intravenosa no se ha normalizado el metabolismo del cobre. En la EW, cuando se sobrepasa la capacidad de almacenamiento de cobre por parte del hígado, o cuando se ha producido daño hepatocelular, hay una liberación del cobre celular a la circulación sistémica, elevándose los valores del cobre sérico libre (no ligado a la ceruloplasmina), lo que facilita su incorporación a los tejidos y su eliminación urinaria. Sin embargo, el cobre sérico total (ligado a la ceruloplasmina) está descendido debido a la disminución de la síntesis de ésta, por lo que tiene poco valor diagnóstico.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La expresión clínica de la EW es variable, y a menudo el diagnóstico es tardío o no llega a efectuarse (tabla I). Generalmente se empieza a manifestar entre los 15 y los 50 años. La mayoría presenta hepatopatía, manifestaciones neuropsiquiátricas o ambas. Un 5-10% cursan con otros síntomas o signos no relacionados con el hígado o el cerebro, incluyendo anemia hemolítica, artropatía, osteopo-

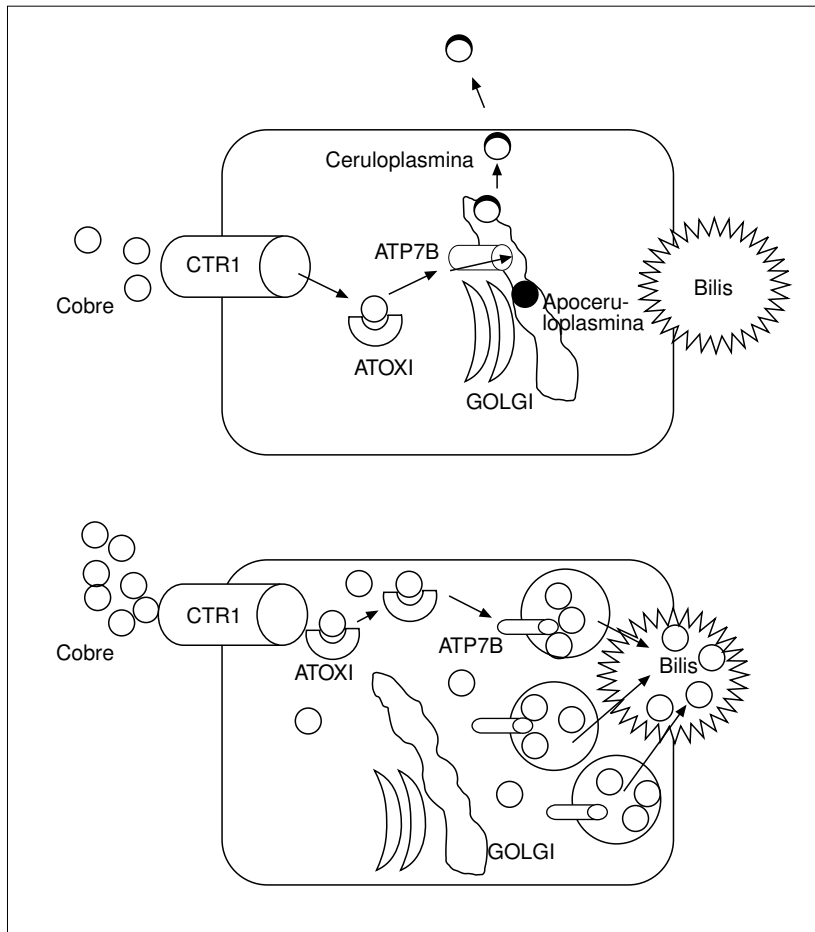


Fig. 1. Vía intrahepatocitaria del cobre. El cobre penetra en el hepatocito a través del gen transportador CTR1 y es distribuido por varios chaperones a distintos compartimentos celulares, siendo el chaperón Atox1 o HAH1, el que lo desplaza hasta el ATP7B, y es este gen el regulador de la excreción biliar de cobre dependiendo de la concentración de este metal en el hepatocito. El ATP7B se expresa abundantemente en el entramado trans-Golgi, donde el cobre se incorpora a la apoceruloplasmina, y así puede ser vertido este metal al plasma ligado a la ceruloplasmina (arriba). Cuando el contenido intrahepatocitario de cobre aumenta, el ATP7B se moviliza desde el entramado trans-Golgi a compartimentos vesiculares en la vecindad de los canalículos biliares (abajo). Tras la acumulación de cobre dentro de estas vesículas, la disminuida concentración de cobre intracitoplasmático ocasiona una redistribución del ATP7B de nuevo al entramado trans-Golgi, y una excreción del cobre a la bilis.

TABLA I. Manifestaciones de la enfermedad de Wilson

Hepáticas	Astenia, ascitis, encefalopatía, hemorragia por varices, ictericia, hepatitis fulminante
Neurológicas	Temblor, disartria, disfagia, babeo, trastornos de la coordinación, rigidez, movimientos coreoatetósicos
Psiquiátricas	Esquizofrenia, psicosis maniaco depresiva, neurosis
Oftalmológicas	Anillo de Kayser-Fleischer, cataratas en girasol
Renales	Acidosis tubular, disminución del filtrado glomerular, nefrolitiasis
Hematológicas	Anemia hemolítica Coombs negativa, trombopenia, leucopenia
Reumatológicas	Osteoporosis, osteomalacia, osteocondritis disecante, quistes subcondrales, condrocalcinosis, artropatía
Endocrinas	Pubertad tardía, ginecomastia, amenorrea, hipoparatiroidismo, afectación testicular
Dermatológicas	Hiperpigmentación cutánea, acantosis nigricans, lúnulas azules
Cardíacas	Cardiomiopatías, fibrosis intersticial miocárdica, arritmias
Musculares	Rabdomiólisis
Digestivas	Pancreatitis, colestasis

rosis o nefropatía. La hepatopatía se manifiesta unos 5-10 años antes de la aparición de las manifestaciones neuropsiquiátricas, siendo la edad típica de inicio de la hepatopatía los 10-13 años, mientras las formas neurológicas se inician a los 19-20 años. Ocasionalmente, el comienzo puede ocurrir incluso a los 3 años, o retrasarse hasta la

sexta década²⁵. Varios trabajos han puesto de manifiesto que los pacientes con la mutación His 1069Glu con carácter homocigoto tienden a presentar los síntomas 10 años más tarde que los heterocigotos compuestos²⁶.

Hepatopatía

En fases iniciales, el cobre hepatocelular está unido primordialmente a las metalotioneínas, y se encuentra distribuido de forma difusa en el citoplasma, siendo paradójicamente negativas las tinciones inmunohistoquímicas para el cobre, como la rodamina, el ácido rubeánico y la orceína. En este estadio inicial se evidencia macro y sobre todo microesteatosis, degeneración glucogénica de los núcleos y necrosis focal. Mediante microscopía electrónica pueden observarse alteraciones mitocondriales consideradas por algunos autores como patognomónicas²⁷, consistentes en mitocondrias grandes y pleomorfas, con una matriz de alta densidad, en la que se aprecian grandes gránulos o inclusiones cristalinas vacuoladas, junto a la dislocación de las puntas de las crestas mitocondriales como resultado de la separación de las membranas externas e internas de dichas crestas, de modo que el espacio entre las crestas se ensancha y adquiere unas formas quísticas irregulares. Si sólo está dilatada la punta de la cresta, esta última puede asemejarse a una raqueta de tenis; es

de resaltar que estas lesiones desaparecen con el desarrollo de la cirrosis.

Al progresar la enfermedad, el cobre excede la capacidad de las metalotioneínas y se deposita en los lisosomas, pudiendo detectarse estos agregados lisosómicos con las tinciones para el cobre, y visualizarse con el microscopio electrónico como gránulos densos pericanaliculares.

La hepatopatía puede presentarse como hepatitis crónica activa, cirrosis o como hepatitis fulminante. La hepatitis crónica activa se detecta en el 10-20% de pacientes, y es casi indistinguible de otras formas de hepatitis, con unos infiltrados mononucleares constituidos por linfocitos y células plasmáticas, con necrosis en sacabocados y fibrosis. Frecuentemente, la modesta elevación de las transaminasas no refleja la gravedad de la inflamación. Los cuerpos de Mallory pueden detectarse hasta en un 50% de las biopsias. El cobre induce la fibrogénesis, desarrollando cirrosis macronodular, y con menos frecuencia micronodular. En el hígado cirrótico, algunas áreas pueden no evidenciar la presencia de cobre mediante las tinciones, por lo que pueden haber errores de muestra. La EW debe considerarse en el diagnóstico diferencial de cualquier hepatopatía crónica activa no aclarada, especialmente si el paciente tiene menos de 40 años. La disfunción hepática es la manifestación clínica más importante en el 50% de pacientes con EW.

Pacientes jóvenes detectados mediante cribado familiar suelen estar asintomáticos o evidenciar sólo alguna anomalía bioquímica. En algunos pacientes no se aprecian diferencias respecto a otras formas de hepatopatía crónica activa, pudiendo presentar o no otros síntomas específicos. Sin tratamiento evolucionan a la cirrosis. El desarrollo de hepatocarcinoma (al contrario que en la hemocromatosis) es excepcionalmente raro, pudiendo atribuirse a la corta esperanza de vida de los no tratados, o a un hipotético papel protector del cobre, o al tratamiento con D-penicilamina; no obstante, en ratas Long-Evans-Cinnamon, modelos animales de EW, se ha evidenciado que concentraciones elevadas de cobre inducen la aparición de hepatomas en animales de edad avanzada²⁸.

En algunos pacientes, la forma de presentación es una hepatitis fulminante de la que se desconoce su mecanismo desencadenante, pudiendo resultar difícil el diagnóstico diferencial con las hepatitis de otra etiología, ya que los hallazgos histológicos son inespecíficos, con extensa necrosis hepática, nódulos de regeneración y cuerpos de Mallory, cursando generalmente sobre una cirrosis subyacente. Suelen presentar unos valores desproporcionadamente bajos de transaminasas y de fosfatasa alcalinas, mientras la bilirrubina puede estar muy elevada debido a una anemia hemolítica grave, con test de Coombs negativo, y también la relación entre transaminasas glutámico oxalacéticas/pirúvicas tiende a ser superior a 4. Cursa con un rápido deterioro de la función hepática, encefalopatía, coagulopatía y muerte, por lo que debe plantearse la realización temprana de un trasplante hepático. La presencia de anemia hemolítica no inmunitaria, la acusada elevación del cobre en el suero y la orina y, según algunos autores, una relación fosfatasa alcalina/bilirrubina menor de

2, sugieren la presencia de EW²⁹, sobre todo en jóvenes en la segunda década de la vida, en los que el anillo de Kayser-Fleischer puede no haberse formado aún. Los valores de ceruloplasmina sérica pueden ser normales transitoriamente debido a su autoestímulo por la inflamación. La incidencia de hepatitis fulminante es doble en las mujeres que en los varones.

En la aparición de cálculos de bilirrubinato influyen las crisis hemolíticas recurrentes, así como la presencia de cirrosis ya establecidas.

Manifestaciones neuropsiquiátricas

Tienden a aparecer en la segunda o tercera décadas de la vida, o más tarde, aunque han llegado a detectarse a los 6-10 años. Predominan los síntomas extrapiramidales, cerebelosos y pseudobulbares, como la disartria, la disfagia, el babeo, el temblor distal de reposo e intencional, trastornos de la coordinación, espasticidad, rigidez, movimientos coreoatetósicos, sin deterioro del intelecto³⁰. En un 10-20% hay manifestaciones psiquiátricas, pero siempre acompañadas de manifestaciones neurológicas, caracterizándose por alteraciones de la conducta y de la afectividad, con manifestaciones psicóticas y neuróticas. Prácticamente en estos pacientes se detecta siempre el anillo de Kayser-Fleischer. La resonancia magnética nuclear cerebral es una técnica muy útil para valorar las lesiones, evidenciando que la degeneración y cavitación afectan sobre todo al putamen, al globo pálido, al núcleo caudal, al tálamo y al tallo cerebral; también hay cambios groseros en la corteza y la sustancia blanca en un reducido porcentaje de pacientes, y con frecuencia se observa atrofia generalizada y dilatación ventricular^{31,32}. En modelos animales de EW se ha localizado la proteína *ATP7B* y el ARN mensajero del *ATP7B* en las neuronas del hipocampo, bulbo olfatorio, cerebelo, corteza cerebral y núcleos del tallo cerebral, detectándose también concentraciones elevadas de cobre en dichos lugares, por lo que la disfunción del *ATP7B* local puede estar en relación directa con las manifestaciones neurológicas³³. No obstante, las publicaciones sobre la regresión de las manifestaciones neuropsiquiátricas tras trasplantes hepáticos indican que el defecto genético primario responsable de la acumulación de cobre reside en el hígado^{34,35}.

Anillo de Kayser-Fleischer

Se debe a la acumulación de cobre en la membrana de Descemet, inicialmente en los polos superior e inferior de la córnea y con ulterioridad en forma circunferencial alrededor del iris. Es obligatorio el uso de la lámpara de hendidura, pues también permite detectar la acumulación de cobre en el cristalino, originando las denominadas cataratas en girasol, que no interfieren en la visión. Ambas anomalías pueden desaparecer tras tratamiento quelante. Su aparición es excepcional antes de los 7 años, detectándose en la casi totalidad de pacientes con manifestaciones neurológicas, aunque puede estar ausente en un reducido porcentaje con síntomas neuropsiquiátricos³⁶.

TABLA II. **Parámetros bioquímicos normales y en la enfermedad de Wilson**

	Normal	Wilson
Ceruloplasmina	20-40 mg/dl	< 20 mg/dl
Eliminación urinaria de Cu/24 h	< 50 µg	> 100-1.000 µg
Cobre intrahepático	< 50 µg/g	> 250 µg/g
Cobre sérico total	60-120 µg/dl	< 60 µg/dl
Cobre sérico libre	5-10 µg/dl	> 25 µg/dl

Cobre sérico libre = cobre sérico total – cobre ligado a ceruloplasmina.
Cobre ligado a ceruloplasmina = ceruloplasmina (en mg/dl) × 3,15 (cantidad de Cu en µg/mg de ceruloplasmina).

TABLA III. **Actitud a seguir ante la sospecha de una posible enfermedad de Wilson**

<i>Estudios iniciales</i>
Ceruloplasmina y cobre séricos
Examen con lámpara de hendidura
Pruebas de función hepática
Excreción urinaria de cobre
– Si hay anillo de KF, ceruloplasmina y cobre sérico bajos EW
– Si hay anillo de KF y cobre sérico normal o ausencia de KF con ceruloplasmina y cobre séricos bajos, realizar otros estudios como excreción urinaria de cobre y pruebas de función hepáticas
– Si hay ausencia de KF con ceruloplasmina y cobre sérico normales probablemente no se trata de EW, pero hay que excluir otras enfermedades
<i>Estudios especiales</i>
Estudio familiar de haplotipos si se dispone de ADN del caso índice
Biopsia hepática para histología y determinación de cobre intrahepático
Estudios isotópicos del cobre
Detección de mutaciones
– El estudio familiar de haplotipos a partir de un caso índice puede ser ambiguo
– Un cobre intrahepático > 250 µg/g es diagnóstico de EW, pero valores inferiores no lo excluyen.
– El estudio de las concentraciones séricas de cobre radiactivo puede ser diagnóstico.
– La detección de mutaciones puede ayudar, pero su rentabilidad actual es baja.

y en el 15-50% de los que aún sólo cursan con hepatopatía. No son específicos de la EW, pues se pueden detectar en hepatopatías crónicas con componente colestásico, como cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, colestasis familiares, hepatitis autoinmunes, etc.

OTRAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Renales

La disfunción tubular distal produce proteinuria, acidificación de la orina, aminoaciduria, glucosuria e hipercalcemia. Se observan anomalías glomerulares en forma de hiperplasia, engrosamiento de la membrana basal, hialinización y fibrosis. La D-penicilamina puede inducir una nefropatía por inmunocomplejos. Un 16% de EW tienen cálculos renales de fosfato cálcico.

Óseas y articulares

Osteoporosis, osteomalacia, fracturas espontáneas, osteocondritis disecante, condrocalcinosis y formación de quistes subcondrales.

Hematológicas

Anemia hemolítica Coombs negativa debida a la lesión oxidativa del cobre sobre la membrana eritrocitaria, coagulopatías secundarias a la hepatopatía y leucopenia y trombopenia por hiperesplenismo.

Cardíacas

Cardiomiopatías, fibrosis intersticial miocárdica y arritmias cardíacas.

Otras

Hiperpigmentación cutánea, lúnulas azules en uñas, acantosis nigricans. Rabdomiólisis, pancreatitis, hipoparatiroidismo, amenorrea y afección testicular.

DIAGNÓSTICO

Se requiere conocer la amplia variedad de formas de presentación, siendo esencial un diagnóstico temprano para prevenir la progresión de las lesiones.

En ausencia de los típicos síntomas clínicos, no hay ninguna prueba aislada de laboratorio con la adecuada sensibilidad y especificidad para establecer el diagnóstico de EW en todos los casos. La utilidad de cada prueba varía según el estadio de la enfermedad. En la tabla II se reflejan los datos analíticos en controles sanos y pacientes con EW.

Para hacer el diagnóstico se puede determinar la ceruloplasmina sérica, la excreción urinaria de cobre, la concentración hepática de cobre y buscar el anillo de Kayser-Fleischer con la lámpara de hendidura (tabla III). Según Sternlieb, para un diagnóstico definitivo hay que detectar dos o más de los siguientes datos: a) anillo de Kayser-Fleischer; b) ceruloplasmina sérica inferior a 20 mg/dl; c) típicos hallazgos neuropsiquiátricos, y d) aumento del cobre intrahepático.

Ceruloplasmina

En un 5-15% de los pacientes, los valores de ceruloplasmina son normales o ligeramente bajos. En algunas series, hasta un 40% de pacientes con afección hepática presentan valores normales de ceruloplasmina. Al ser un reactante de fase aguda, puede aumentar su concentración con la inflamación hepática, embarazo, infección, administración de estrógenos etc., o por el contrario, estar descendida en estados de déficit proteico, como en síndrome nefrótico, enteropatía con pérdida de albúmina, síndrome de malabsorción, malnutrición, enfermedad de Menkes e hipo o aceruloplasminemia.

Un 10-20% de heterocigotos para el gen de la EW tienen valores bajos de ceruloplasmina y nunca desarrollarán la enfermedad.

Excreción urinaria de cobre

La eliminación urinaria de cobre en 24 h está incrementada (> 100 µg/24 h) en la EW. No obstante, la sensibilidad

y especificidad de este test son subóptimas. Algunos pacientes presintomáticos pueden no excretar un exceso de cobre, y una inadecuada colección de orina o una contaminación foránea de cobre puede elevar falsamente sus concentraciones. Otras hepatopatías colestásicas pueden liberar cobre de los hepatocitos, ocasionando resultados controvertidos. Se ha propuesto como test la medición del cobre urinario tras la administración de un agente quelante, como la D-penicilamina (500 mg/12 h), pero aún no se ha estandarizado.

Cobre hepático

Algunos autores consideran esta técnica como la más idónea para el diagnóstico de la EW. La concentración hepática de cobre determinada por espectrometría de absorción atómica está generalmente elevada, incluso en pacientes presintomáticos, por encima de 250 $\mu\text{g/g}$ de peso seco (normal, 15-55 $\mu\text{g/g}$). Ocasionalmente, el contenido hepático de cobre puede ser normal o *borderline* debido a un error de la muestra cuando se obtiene insuficiente tejido, o cuando la cirrosis ya está avanzada³⁷ (el cobre puede estar ausente en los nódulos de regeneración), o en la hepatitis fulminante³⁸. En algunos pacientes con EW, la concentración es intermedia (entre 100-250 μg por gramo de peso seco). Algunos heterocigotos presentan aumentos moderados similares.

Cobre sérico

La concentración de cobre sérico total (normal, 60-120 $\mu\text{g/dl}$, y en la EW menor de 60 $\mu\text{g/dl}$) tiene poco valor diagnóstico, pues los valores reducidos de la ceruloplasmina sérica contribuyen a determinar unas concentraciones de cobre total sérico bajas. Sin embargo, el cobre sérico libre está generalmente elevado en la EW sintomática y es una determinación potencialmente útil. El cobre sérico libre se estima restando, de la concentración total de cobre sérico, la cantidad de cobre asociado con la ceruloplasmina. La cantidad de cobre unido a la ceruloplasmina (en $\mu\text{g/l}$) se estima multiplicando la ceruloplasmina (en mg/l) por 3,15 (la cantidad de cobre en $\mu\text{g/mg}$ de ceruloplasmina); si el valor sérico total de cobre está informado en $\mu\text{mol/l}$ se convierte a $\mu\text{g/l}$ multiplicando ese valor por 63,5, el peso atómico del cobre. En la EW, la concentración es mayor de 25 $\mu\text{g/dl}$, o incluso 10 veces más elevada en presencia de hepatitis fulminante y anemia hemolítica. En individuos normales, el cobre sérico libre es de 5-10 $\mu\text{g/dl}$.

Cobre radiomarcado

La incorporación alterada del cobre a la ceruloplasmina puede determinarse por medio de isótopos radiactivos. En la EW hay una escasa o nula incorporación del cobre radiomarcado al plasma total, o al componente de la ceruloplasmina, después de una dosis oral o intravenosa de cobre radiomarcado. Los individuos normales tienen una elevación inicial del Cu_{65} sérico tras su administración

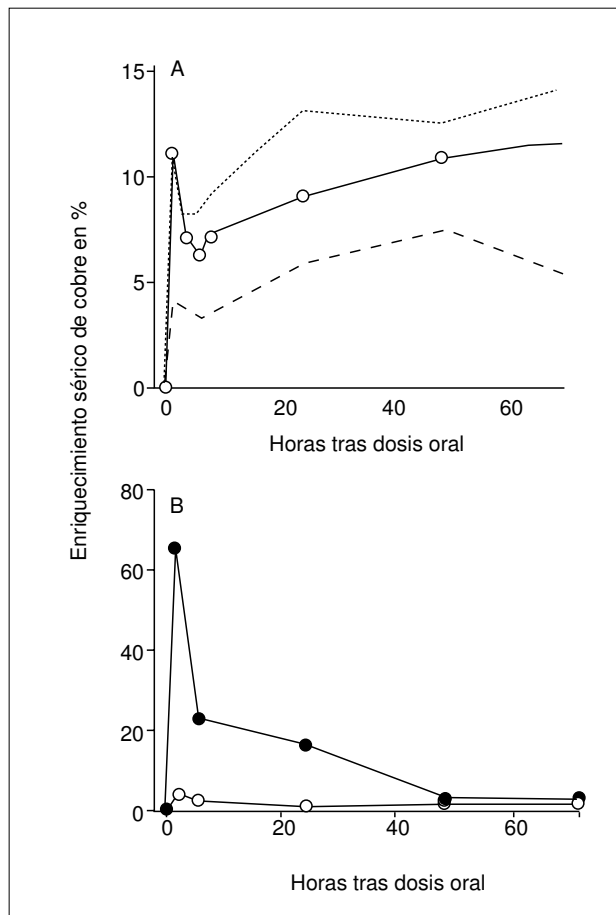


Fig. 2. Concentraciones séricas de Cu_{64} tras su administración oral en: (A) Controles sanos, indicando las líneas interrumpidas los límites superior e inferior. (B) Pacientes con EW tratados con D-penicilamina (círculos negros) o con cinc (círculos blancos)³⁸.

oral, seguida de un descenso a medida que el cobre es aclarado por el hígado, presentando una segunda elevación cuando el Cu_{65} es incorporado en la ceruloplasmina recientemente sintetizada y liberada a la circulación. Los pacientes con EW, incluso aquellos con valores normales de ceruloplasmina, no evidencian esta segunda elevación del Cu_{65} sérico³⁹ (fig. 2). Desde un punto de vista práctico, este test no es ampliamente utilizado. La incorporación del cobre a la ceruloplasmina no siempre es fiable para diferenciar los heterocigotos de los pacientes homocigotos, pues algunos heterocigotos no presentan incorporación del cobre a la ceruloplasmina y, por tanto, son indistinguibles de los pacientes presintomáticos.

Resonancia magnética cerebral

Suele detectar los depósitos de cobre en estadios tempranos en pacientes sintomáticos y permite observar cómo disminuyen tras la terapia quelante. Son característicos los cambios en los ganglios basales, el tálamo y el núcleo dentado, y la atrofia cortical generalizada asociada a dilatación de los ventrículos^{31,32}, reflejo de la degeneración cavitaria con marcada gliosis y pérdidas neuronales por la acumulación

TABLA IV. Tratamiento médico de la enfermedad de Wilson

	Dosis	Control cumplimiento
D-Penicilamina	1 g/día repartidas en 3-4 tomas v.o. en ayunas	Cobre en orina > 250 µg/día Cobre sérico libre < 10 µg/dl
Trientina	Ídem	Ídem
Acetato de cinc	50 mg tres veces al día v.o. en ayunas	Cinc en orina > 1.000 µg/24 h Cobre sérico libre < 10 µg/dl
Tetramolibdato	20 mg seis veces al día v.o. (3 en comidas y 3 en ayunas) durante 8 semanas	Cobre sérico libre < 10 µg/dl

de cobre. Se ha descrito el signo de la «cara del panda gigante» por la alta intensidad de señal en el tegmento, salvo en el núcleo rojo, manteniéndose la intensidad de señal en la porción lateral de la zona reticulada de la sustancia negra, e hipointensidad del colículo superior⁴⁰.

Los estudios de la somatosensibilidad auditiva y de la conducción de potenciales evocados visuales son sensibles para demostrar la afectación inicial del sistema nervioso central.

Estudio genético

Dado que se han descrito más de 200 mutaciones del gen (quedan aún muchas por descubrir), y que la mutación más común está presente en sólo el 15-35% de la mayoría de las poblaciones, el análisis directo *de novo* para detectar mutaciones específicas es muy difícil, dada la situación de la tecnología actual. Es trascendental establecer una clara diferenciación entre homocigotos, heterocigotos compuestos y portadores heterocigotos, sobre todo en estadios asintomáticos, dado que se debe plantear la instauración temprana de un tratamiento quelante de por vida. El cribado de familiares de primer grado de un paciente índice es posible mediante análisis del haplotipo. Esto requiere la inspección del tipo de polimorfismos del ADN en la región que rodea el gen de la EW, con una marcada asociación con los haplotipos D13S314, D13S316 y D13S301, para determinar si se han heredado entre los familiares las regiones mutantes presentes en el individuo enfermo⁴¹. En la actualidad, los marcadores más útiles son los de reacción en cadena de la polimerasa del ADN, que abarcan los microsatélites altamente polimórficos^{42,43}. Hoy por hoy, el estudio genético está limitado al cribado familiar y se utiliza junto a los estudios clínicos y bioquímicos clásicos.

Cribado de familiares asintomáticos

Dado que el riesgo de EW es del 40% en hermanos y de 0,5% en hijos de un paciente índice⁴⁴, los familiares de primer grado menores de 40 años deben ser estudiados determinando los valores de ceruloplasmina, bioquímica hepática y exploración física. Si la ceruloplasmina sérica es inferior a 20 mg/dl debe realizarse una biopsia hepática para determinar el cobre del tejido hepático. Si las cifras de ceruloplasmina son normales pero se acompañan de elevación de transaminasas o signos clínicos de hepatopatía, también se efectuará la biopsia hepática. Dado que los niños pequeños tienen unos valores bajos de ceruloplasmina, el cribado debe retrasarse hasta que tengan 3-4 años.

También puede determinarse el haplotipo (véase el apartado Genética) en aquellos familiares asintomáticos pero con datos analíticos sugestivos de EW, ya que permite diferenciar homocigotos de heterocigotos.

PRONÓSTICO

Al comienzo hay una acumulación de cobre en el citosol de los hepatocitos. Con ulterioridad, los depósitos de cobre llegan a un valor crítico, provocando su redistribución gradual hacia los lisosomas y el plasma. Hasta este momento el paciente se encuentra asintomático. Pero, en ocasiones, se libera bruscamente cobre al plasma provocando una anemia hemolítica y/o una necrosis hepática aguda. Al proseguir la acumulación de cobre lisosomal, se induce fibrosis progresiva y cirrosis hepática, y se continúa el depósito de cobre en otros órganos y tejidos, pudiendo aparecer manifestaciones de hepatopatía o neurológicas. La instauración del tratamiento cupriurético puede conseguir un balance de cobre apropiado; si se iniciara el tratamiento cuando las lesiones fuesen todavía reversibles, permitiría al paciente continuar asintomático. Los pacientes con hepatopatía incipiente tienen un buen pronóstico, siempre que el tratamiento sea continuo y bien tolerado; en cambio, la enfermedad neurológica grave responde sólo parcialmente. El tratamiento apenas es efectivo sobre las lesiones óseas.

TRATAMIENTO

El propósito es abolir los síntomas si existen, y prevenir la progresión de la enfermedad. Debe instaurarse lo antes posible y mantenerlo de por vida, incluso durante los embarazos. Los portadores heterocigotos no requieren ningún tratamiento. La quelación es el tratamiento de elección. Entre los agentes quelantes están la D-penicilamina y la trientina, y entre los que reducen la absorción de cobre, las sales de cinc y el tetramolibdato de amonio (tabla IV). Obviamente, sería inadecuado utilizar quelantes del cobre y sales de cinc de manera simultánea. El momento adecuado para empezar el tratamiento en casos asintomáticos detectados durante un cribado familiar es controvertido.

Medidas dietéticas

Se evitarán los alimentos ricos en cobre, como vísceras de animales, mariscos, frutos secos, cacao, chocolate, ge-

latinas, setas y productos de soja. Debe analizarse el agua por si contuviera un exceso de cobre y sustituirla por otra si fuera necesario. No obstante, la terapia dietética *per se* no es suficiente⁴⁵.

D-penicilamina

Aumenta extraordinariamente la excreción urinaria de cobre y puede inducir la producción de metalotioneínas, en particular en el hígado. Administrada en ayunas mejora su absorción y evita la quelación con el cobre de la dieta. Además de su acción quelante, inhibe el entrecruzamiento del colágeno y tiene ciertas propiedades inmunodepresoras¹². Se emplea en el tratamiento de la artritis reumatoide, la cistinuria y en las intoxicaciones por plomo o mercurio. La dosis es de 1-1,5 g/día en adultos (Cupripén® en tabletas de 250 mg), o 25 mg/kg/día en niños, divididas en tres o cuatro tomas al día, 30 min antes, o 2 h después de las comidas, y al acostarse. Estas dosis causan cupruriosis iniciales de 2.000 µg/día, seguido de una gradual reducción de la excreción de cobre. La mejoría de los síntomas suele tardar meses en hacerse evidente. En el 20-30% de pacientes con síntomas neuropsiquiátricos, el comienzo de la administración de D-penicilamina puede empeorarlos⁴⁶; si esto ocurre, se reducirá la dosis a 250 mg/día y se incrementará en 250 mg/día cada semana⁴⁷; el deterioro neurológico también se ha descrito con todas las otras modalidades de terapia quelante. Un 10-25% de pacientes pueden presentar fiebre, leucopenia, adenopatías, erupción cutánea y proteinuria a los pocos días del comienzo del tratamiento. Un 10-20% de pacientes sufren efectos colaterales a lo largo del tratamiento, como exantema urticariforme, estomatitis, malestar gastrointestinal, pérdida de cabello, leucopenia, forunculosis, trombopenia, hipertrofia mamaria, polimiositis, miastenia, síndrome de Goodpasture y lupus eritematoso sistémico⁴⁴. Generalmente son efectos dependientes de la dosis que ceden disminuyéndola temporalmente y, a veces, pueden ser controlados asociándolo a 20-30 mg/día de prednisona. Debe tenerse en cuenta que puede presentar interacciones con las sales de oro, la fenilbutazona, los antipalúdicos, y que disminuye el efecto de la digoxina; así mismo, pueden presentar reacciones adversas en los alérgicos a la penicilina.

Para el seguimiento se deben efectuar controles clínicos y analíticos el primer mes, y luego cada 3 meses incluyendo análisis de sangre y orina para evaluar la toxicidad y la eficacia. Hemos citado que al principio se eliminan por orina más de 1.000 µg/día, luego disminuyen a 250-500 µg/día, tendiendo a permanecer a estos valores; concentraciones inferiores a 250 µg/día sugieren un incumplimiento del tratamiento o un diagnóstico incorrecto. Es conveniente examinar con la lámpara de hendidura la evolución del anillo de Kayser-Fleischer. El cobre libre en sujetos sanos y en pacientes adecuadamente tratados es de 10 µg/dl o menos, pero en los pacientes que son anárquicos con la toma de la medicación con frecuencia se observan más de 25 µg/dl. Si permanecen asintomáticos y se han normalizado las analíticas (generalmente al

cabo de un año de dar 1-1,5 g/día), se recomienda una dosis de mantenimiento de 0,75 g/día en tres o cuatro tomas, 30 min antes, o 2 h después de las comidas, debiendo seguir controlados cada 6 meses, pues es trascendental que nunca se abandone el tratamiento. Algunos autores recomiendan iniciar el tratamiento con D-penicilamina y seguir la terapia de mantenimiento con sales de cinc (no obstante, se ha sugerido que el cobre hepático puede seguir acumulándose en pacientes tratados sólo con sales de cinc). Otros recomiendan mantener de por vida la D-penicilamina, o la trientina como quelante alternativo si hay intolerancia a la D-penicilamina. Recientemente se ha descrito que tratamientos prolongados estándar con D-penicilamina ocasionan un descenso de los valores de ceruloplasmina, lo que conlleva una baja actividad ferroxidasa que puede incrementar el hierro depositado en el hígado y llegar a requerir flebotomías para mejorar los parámetros bioquímicos hepáticos⁴⁸. Por su efecto antipiridoxina, debe asociarse a piridoxina, 25 mg/día.

Trientina

Es el dihidrocloruro de trietilenotetramina. Es mucho más caro que la D-penicilamina. Aumenta la excreción urinaria de cobre e interfiere la absorción intestinal del mismo. La quelación es algo menor que la de la D-penicilamina, pero esta diferencia carece de importancia clínica. Apenas tiene efectos colaterales, por lo que es el fármaco más seguro para iniciar el tratamiento en pacientes sintomáticos, aunque puede producir gastritis y déficit de hierro. Constituye una alternativa en casos de intolerancia a la D-penicilamina⁴⁹. La dosis es de 750-1.000 mg/día, dividida en cuatro tomas en ayunas.

Sales de cinc

Es una terapia eficaz de mantenimiento sin apenas efectos colaterales, recientemente aprobada en los EE.UU. para pacientes con EW inicialmente tratados con agentes quelantes. También puede estar indicado en pacientes presintomáticos y durante el embarazo. El cinc induce las metalotioneínas que, por tener una mayor afinidad por el cobre que por el cinc, se unen de una forma preferente sobre el cobre del contenido intestinal y promueven su excreción en las heces; dada la importante eliminación de cobre por las secreciones digestivas, durante la administración de cinc se bloquea parcialmente su reabsorción, lo que contribuye a la eliminación del cobre corporal ya acumulado y previene su reaccumulación. La dosis típica de acetato de cinc (mejor tolerado que el sulfato) es 50 mg 3 veces al día en ayunas. Puede tener efectos inmunodepresores, reducir la quimiotaxis de los leucocitos y producir gastritis. A menudo incrementa los valores séricos de amilasa, lipasa y fosfatasa alcalina. Estudios en animales alimentados permanentemente con cinc no han evidenciado daño pancreático⁵⁰, pero sí que acelera la reabsorción ósea y provoca anemia microcítica (simulando una anemia ferropénica), hipocalcemia y diarrea. Son efectos provocados por la deficiencia de cobre, por lo que es sumamente im-

probable que se presenten en pacientes con EW. En los que siguen correctamente el tratamiento, el cobre sérico libre es menor de 10 µg/dl, y el cinc en la orina de 24 h es superior a 1.000 µg/24 h, debiendo monitorizarlos un par de veces al año.

Tetramolibdato de amonio

Limita la absorción de cobre por formar complejos con el cobre y la albúmina en la luz intestinal. Este complejo no puede ser absorbido por las células de la mucosa intestinal. El fármaco libre también es absorbido en la sangre circulante, donde forma complejos con la albúmina y el cobre, reduciendo el cobre disponible para la captación celular. Puede ser efectivo en caso de afección neurológica grave. Suelen administrarse 6 dosis diarias, tres con las comidas a la dosis de 20 mg cada una, y otras tres entre comidas a una dosis progresiva hasta normalizar el cobre libre sérico; se administra durante unas 8 semanas, pudiéndose continuar el tratamiento con sales de cinc^{51,52}. Se ha descrito depresión medular como único efecto adverso.

Antioxidantes

El tratamiento con antioxidantes, como el α -tocoferol, se ha propuesto como terapia adyuvante para aminorar la lesión inducida por la formación de radicales libres y peroxidación lipídica⁵³.

Trasplante hepático

El trasplante ortotópico de hígado es un tratamiento potencialmente curativo de la EW. Causa una disminución de los valores de cobre sérico, normaliza las concentraciones de ceruloplasmina e incrementa la cupriuresis^{54,55}. Un estudio³⁴ de 55 pacientes evidenció que un año tras el trasplante de hígado por EW la supervivencia era del 79%. Está fundamentalmente indicado en pacientes con hepatitis fulminante o cirrosis en estadio terminal, en los que la enfermedad progresa pese la terapia quelante. Suele comprobarse también una mejoría del cuadro neurológico, aunque es más polémica la indicación del mismo sólo con esta finalidad⁵⁶⁻⁵⁸. No se ha publicado que exista recidiva de la lesión hepática relacionada con el cobre en los pacientes trasplantados por EW, pues la homeostasis del cobre se ha normalizado a los 6 meses. Los pacientes trasplantados no precisan ya del tratamiento de la EW.

Embarazo

Las pacientes con EW no tratadas pueden presentar amenorrea primaria o secundaria debido a disfunciones ováricas⁵⁹; también pueden tener predisposición a abortos espontáneos, quizás por el excesivo cobre libre depositado en el útero proveniente del plasma⁶⁰. Es imprescindible continuar el tratamiento de la EW a lo largo de todo el embarazo. Las pacientes adecuadamente tratadas suelen tener un embarazo normal⁶¹, aunque si tienen ya instaura-

da la cirrosis hepática hay un mayor riesgo de aborto, embarazo prematuro y de hemorragia por rotura de varices esofágicas. Tanto la D-penicilamina como la trientina parecen seguras, tanto para la madre como para el feto⁶², recomendándose reducir la dosis a 0,5 g/día durante el último trimestre de la gestación. Las sales de cinc también pueden ser una alternativa válida en embarazadas que ya habían sido previamente tratadas correctamente con quelantes^{63,64}. Si se prevé la realización de una cesárea, la dosis de D-penicilamina debería reducirse a 0,25 g/día durante 6 semanas previas a la operación⁶¹, para evitar problemas en la cicatrización de la herida. No se han observado efectos adversos en los bebés amamantados por madres que tomaban D-penicilamina, aunque en un estudio se detectó que esta leche tenía unas concentraciones reducidas de cobre y cinc⁶⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wilson SAK. Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain* 1912; 34:295-509.
2. Frydman M. Genetics aspects of Wilson's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1990;5:483-90.
3. Schoen RE, Sternlieb I. Clinical aspects of Wilson's disease. *Am J Gastroenterol* 1990;85:1453-7.
4. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to Menkes gene. *Nat Genet* 1993;5:327-37.
5. Petrukhin K, Fischer SG, Pirasdtu M, Tanzi RE, Chernov I, Devoto M, et al. Mapping cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. *Nat Genet* 1993; 5:338-43.
6. Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, Pellequer JL, Wasco W, Rose B, et al. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;5:344-50.
7. Maier-Dobersberger T, Fenenci P, Polli C, Balac P, Dienes HP, Kaserer K, et al. Detection of the His 1069Glu mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1997;127:21-6.
8. Czlonkowska A, Rodo M, Gajda J, Ploos van Amstel HK, Juyn J, Houwen RH. Very high frequency of the His 1069Glu mutation in Polish Wilson disease patients. *J Neurol* 1997;244:591-9.
9. Loudianos G, Dessi V, Lovicu M, Angius A, Figus A, Lilliu F, et al. Molecular characterization of Wilson disease in the Sardinian population -evidence of a founder effect. *Hum Mutat* 1999;14:294-303.
10. Shah AB, Chernov I, Zhang HT, Ross BM, Das K, Lutsenko S, et al. Identification and analysis of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B): population frequencies, genotype-phenotype correlation, and functional analysis. *Am J Hum Genet* 1997; 61:317-28.
11. Vulpe CD, Packman S. Cellular copper transport. *Annu Rev Nutr* 1995;15:293-322.
12. Gollan JL, Gollan TJ. Wilson disease in 1998: genetic, diagnostic and therapeutic aspects. *J Hepatol* 1998;28 (Supl 1):28-36.
13. Zhou B, Gitscher J. hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:7481-6.
14. Freedman JH, Ciriolo MR, Peisach J. The role of glutathione in copper metabolism toxicity. *J Biol Chem* 1989;264:5598-605.
15. Schilsky ML, Blank RR, Czaja MJ, Zern MA, Scheinberg IH, Stockert IH, et al. Hepatocellular copper toxicity and its attenuation by zinc. *J Clin Invest* 1989;84:1562-8.
16. Klomp LW, Liu SJ, Yuan DS, Klausner RD, Culotta VC, Gitlin JD. Identification an functional expression of HAH1, a novel human gene involved in copper homeostasis. *J Biol Chem* 1997;272:9332-6.

17. Tereda K, Kawarda Y, Muira N. Copper incorporation into ceruloplasmin in rat livers. *Biochim Biophys Acta* 1995;1270:58-63.
18. Harris ZL, Takahashi Y, Miyajima H, Serizawa M, MacGillibray RT, Gitlin JD. Aceruloplasminemia: molecular characterization of this disorder of iron metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:2539-43.
19. Hung IH, Suzuki M, Yamaguchi Y, Yuan DS, Klausner RD, Gitlin JD. Biochemical characterization of the Wilson disease protein and functional expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 1997;272:21461-6.
20. Loudianos G, Gitlin JD. Wilson's disease. *Sem Liver Dis* 2000;20:353-64.
21. Schaefer M, Roelofsens H, Wolters H, Hofmann WJ, Muller M, Kuipers F, et al. Location of the Wilson's disease protein in human liver. *Gastroenterology* 1999;117:1380-5.
22. Schieffermeier M, Kollegger H, Madl C, Polli C, Oder W, Kuhn H-J, et al. The impact of apolipoprotein E genotypes on age and onset of symptoms and phenotypic expression in Wilson's disease. *Brain* 2000;123:585-90.
23. Gitlin JD. Aceruloplasminemia. Review. *Pediatr Res* 1998;44:271-6.
24. Hellman NE, Schaefer M, Gerhke S, Stegen P, Hoffman WJ, Gitlin JD, et al. Hepatic iron overload in aceruloplasminemia. *Gut* 2000;47:858-60.
25. Wang X-P. Wilson disease: asymptomatic or late-onset type. *Acta Neurol Scand* 1996;94:421-2.
26. Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, Walshe JM, Cox DW. Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences. *Nat Genet* 1995;9:210-7.
27. Sternlieb I. Mitochondrial and fatty changes in hepatocytes of patients with Wilson's disease. *Gastroenterology* 1968;55:354-67.
28. Schilsky ML, Sternlieb I. Animal models of copper toxicosis. In: Cornelius C, editor. *Advances in veterinary science and comparative medicine*, Vol 37. San Diego: Academic Press, 1993; p. 357-77.
29. Berman DH, Leventhal RI, Gavalier JS, Cadoff EM, Van Thiel DH. Clinical differentiation of fulminant Wilsonian hepatitis for other causes of hepatic failure. *Gastroenterology* 1991;100:1129-34.
30. Walshe JM, Yealland M. Chelational treatment of neurological Wilson's disease. *Q J Med* 1993;86:197-204.
31. Starosta-Rubinstein S, Young AB, Kluin K, Hill G, Aisen AM, Gabrielsen T, et al. Clinical assesment of 31 patients with Wilson's disease: correlation with structural changes on magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 1987;44:365-70.
32. Mochizuki H, Kamakura K, Masaki T, Okano M, Nagata T, Inui A, et al. Atypical MRI features of Wilson's disease: high signal in globus pallidus on T1-weighted images. *Neuroradiology* 1997;39:171-4.
33. Saito T, Okabe M, Hosokaba T, Kurasaki M, Hata A, Endo F, et al. Immunohistochemical determination of the Wilson copper-transporting P-type ATPase in the brain tissues of the rat. *Neurosci Lett* 1999;266:13-6.
34. Schilsky ML, Scheinberg IH, Sternlieb I. Liver transplantation for Wilson's disease: indications and outcome. *Hepatology* 1994;19:583-7.
35. Polson RJ, Rolles K, Calne RY, Williams R, Marsden D. Reversal of severe neurological manifestations of Wilson's disease following orthotopic liver transplantation. *Q J Med* 1987;64:685-91.
36. Willeit J, Kiechl SG. Wilson's disease with neurologic impairment but no Kayser-Fleischer rings. *Lancet* 1991;337:1426.
37. Faa G, Nurchi V, Demelia L, Ambu R, Parodo G, Congiu T, et al. Uneven hepatic copper distribution in Wilson disease. *J Hepatol* 1995;22:303-8.
38. Steindi P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl C, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease. *Gastroenterology* 1997;113:212-18.
39. Lyon TD, Fell GS, Gaffney D, McGaw BA, Russell RI, Park RH, et al. Use of a stable copper isotope (Cu65) in the differential diagnosis of Wilson's disease. *Clin Sci* 1995;88:727-32.
40. Hitoshi S, Iwata M, Yoshikawa K. Mid-brain pathology of Wilson's disease: MRI analysis of three cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:624-6.
41. Thomas GR, Bull PC, Roberts EA, Walshe JM, Cox DW. Haplotype studies in Wilson disease. *Am J Hum Genet* 1993;54:71-8.
42. Maier-Dobersberger T, Mannhalter C, Rack S, Granditsch G, Casere K, Korninger L, et al. Diagnosis of Wilson's disease in an asymptomatic sibling by DNA linkage analysis. *Gastroenterology* 1995;109:2015-8.
43. Riordan SM, Williams R. The Wilson's disease gene and phenotypic diversity. *J Hepatol* 2001;34:165-71.
44. Ferenci P. Wilson's disease. *Clin Liver Dis* 1998;2:31-49.
45. Pfeil SA, Lynn DJ. Wilson's disease. Copper unfettered. *J Clin Gastroenterol* 1999;29:22-31.
46. Brewer GJ, Terry CA, Aisen AM, Hill GM. Worsening of neurological syndrome in patients with Wilson's disease with initial penicillamine therapy. *Arch Neurol* 1987;44:490-3.
47. Shoulson I, Goldblatt D, Plassche W, Wilson G. Some therapeutic observations in Wilson's disease. *Adv Neurol* 1983;37:239-46.
48. Shiono Y, Wakusawa S, Hayashi H, Takikawa T, Yano M, Okada T, et al. Iron accumulation in the liver of male patients with Wilson's disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:3147-51.
49. Scheinberg IH, Jaffe ME, Sternlieb I. The use of trientine in preventing the effects of interrupting penicillamine therapy in Wilson's disease. *N Engl J Med* 1987;31:209-13.
50. Anderson LA, Hakojarvi SL, Boudreaux SK. Zinc acetate treatment in Wilson's disease. *Ann Pharmacother* 1998;32:78-87.
51. Brewer GJ, Dick RD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Tankanow R, Young AB, Kluin KJ. Initial therapy of patients with Wilson's disease with tetrathiomolybdate. *Arch Neurol* 1991;48:42-7.
52. Brewer GJ, Dick RD, Jhonson V, Wang Y, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kluin K, et al. Treatment of Wilson's disease with ammonium tetrathiomolybdate. I. Initial therapy in neurologically affected patients. *Ach Neurol* 1994;51:545-54.
53. Sokol RJ, McKim JM, Devereaux MW. Alpha-tocopherol ameliorates oxidant injury in isolated copper-loaded rat hepatocytes. *Pediatr Res* 1996;39:259-63.
54. Díaz J, Acosta F, Cañizares F, Bueno FS, Tornel PL, Tovar I, et al. Does orthotopic transplantation normalize copper metabolism in patients with Wilson's disease? *Transplant Proc* 1995;27:2306.
55. Chen CL, Chen YS, Lui CC, Hsu SP. Neurologic improvement of Wilson's disease after liver transplantation. *Transplant Proc* 1997;29:497-8.
56. Schumacher G, Platz KP, Mueller AR, Neuhaus R, Steinmuller T, Bechstein WO, et al. Liver transplantation: treatment of choice for hepatic and neurological manifestation of Wilson's disease. *Clin Transplant* 1997;11:217-24.
57. Bax RT, Hassler A, Luck W, Heftner H, Krageloh-Mann I, Neuhaus P. Cerebral manifestations of Wilson's disease successfully treated with liver transplantation. *Neurology* 1998;51:863-5.
58. Madsen AL, Marsh W, Alpers DH. Intractable neurological Wilson's disease treated with orthotopic liver transplantation. *Dig Dis Sci* 1993;38:1746-50.
59. Kaushansky A, Frydman M, Kaufman F, Homburg R. Endocrine studies of the ovulatory disturbances in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Fertil Steril* 1987;47:270-3.
60. Klee JG. Undiagnosed Wilson's disease as a cause of unexplained miscarriage [letter]. *Lancet* 1979;2:423.
61. Scheinberg IH, Sternlieb I. Pregnancy in penicillamine-treated patients with Wilson's disease. *N Engl J Med* 1975;293:1300-2.
62. Sternlieb I. Wilson's disease and pregnancy. *Hepatology* 2000;31:531-2.
63. Yarze JC, Martín P, Muñoz SJ, Friedman LS. Wilson's disease: Current status. *Am J Med* 1992;92:643-54.
64. Brewer GJ, Jhonson VD, Dick RD, Fink JK, Kluin KJ. Treatment of Wilson's disease with zinc. XVII: treatment during pregnancy. *Hepatology* 2000;31:364-70.
65. Bunke H, Carlo W-R, Schneider M. Abweichungen in der Zusammensetzung der Muttermilch bei Morbus Wilson. *Kinderärztl Prax* 1989;57:89-92.