

# Recomendações de Orientação Clínica da EASL: Doença de Wilson

Associação Europeia para o Estudo do Fígado\*

## Resumo

Esta recomendação de Orientação Clínica (CPG) foi desenvolvida para ajudar os médicos e outros profissionais de saúde no diagnóstico e manejo de doentes com doença de Wilson. O objetivo é descrever um número de abordagens geralmente aceites para o diagnóstico, a prevenção e o tratamento da doença de Wilson. As recomendações são baseadas numa revisão sistemática da literatura no Medline (versão PubMed), Embase (versão de diálogo) e nas bases de dados da biblioteca Cochrane, usando entradas de 1966 a 2011. Os graus de recomendação, sistema de desenvolvimento e avaliação (GRADE) utilizados noutros CPG da EASL foram usados e definidos face ao sistema de classificação um pouco diferente utilizado nas recomendações de orientação da AASLD (Tabela 1A e B). Infelizmente, não existe um único ensaio controlado aleatorizado para a doença de Wilson, que tenha uma conceção otimizada. Assim, é impossível atribuir uma qualidade de evidência alta ou até mesmo moderada a qualquer uma das questões tratadas nas presentes Recomendações de orientação. A avaliação baseia-se maioritariamente em grandes séries de casos relatados nas últimas décadas.

© 2011 Associação Europeia para o Estudo do Fígado. Publicado por Elsevier B.V. Todos os direitos reservados.

## Introdução

O consumo e absorção de cobre na dieta normal ultrapassam as necessidades metabólicas e a homeostase deste elemento é mantida exclusivamente pela excreção biliar do cobre. A doença de Wilson consiste num distúrbio genético herdado no qual uma excreção biliar defeituosa de cobre leva à sua acumulação, em particular no fígado e no cérebro [1,2]. A doença de Wilson deve-se a mutações do gene ATP7B no cromossoma 13 [3,4], que codifica uma ATPase (ATP7B) tipo P transportadora de cobre situada no complexo de Golgi dos hepatócitos. A ATP7B é responsável pelo transporte do cobre a partir de proteínas chaperoninas intracelulares na via secretora, para a excreção biliar e para a incorporação na apoceruloplasmina para a síntese de ceruloplasmina [3,4]. O desenvolvimento da doença de Wilson deve-se à acumulação de cobre nos tecidos afetados.

A apresentação clínica pode variar amplamente, mas as principais características da doença de Wilson são a doença hepá-

tica e cirrose, distúrbios neuropsiquiátricos, anéis de Kayser-Fleischer na membrana de Descemet da córnea e episódios agudos de hemólise, muitas vezes associados a insuficiência hepática aguda.

A doença de Wilson não é apenas uma doença de crianças e adultos jovens, podendo apresentar-se em qualquer idade [5].

A doença de Wilson consiste num distúrbio genético que pode ser encontrado em todo o mundo. A doença de Wilson é mais comum do que se pensava, com uma frequência do gene de 1 em 90 a 150 e uma incidência (com base nos adultos que apresentam sintomas neurológicos [6]) que pode ascender a 1 em cada 30 000 [7]. Mais de 500 mutações distintas foram descritas no gene de Wilson, das quais 380 desempenham um papel comprovado na patogénese da doença [8].

## Apresentação clínica

As apresentações mais comuns são em conjunto a doença hepática ou distúrbios neuropsiquiátricos. Os doentes assintomáticos são habitualmente detetados durante o rastreio familiar.

### Idade do início dos sintomas

A doença de Wilson pode apresentar sintomas em qualquer idade, embora a maioria dos mesmos surja entre os 5 e os 35 anos. O doente mais novo com relato de cirrose devido à doença de Wilson tinha 3 anos [9]. Cerca de 3% dos doentes têm sintomas para lá da quarta década de vida, apresentando doença hepática ou neurológica [5]. Os doentes mais idosos diagnosticados encontravam-se na sua nona década de vida [10,11].

### Sinais físicos

A manifestação clínica distinta da doença de Wilson é o anel Kayser-Fleischer, que se encontra presente em 95% dos doentes com sintomas neurológicos e pouco mais de metade dos mesmos sem sintomas neurológicos [12,13]. Em crianças que apresentam doença hepática, os anéis de Kayser-Fleischer estão geralmente ausentes [14]. Os anéis de Kayser-Fleischer são provocados pela deposição de cobre na membrana Descemet da córnea. É necessária a realização de um exame de lâmpada de fenda por parte de um observador experiente para identificar os anéis de Kayser-Fleischer. Estes não são específicos da doença de Wilson, uma vez que podem ser encontrados em doentes com doenças colestáticas crónicas, incluindo em crianças com colestase neonatal. Outras alterações oftalmológicas são raras e incluem cataratas em girassol, que são provocadas pelos depósitos de cobre no centro do cristalino. Também podem ser observadas no exame de lâmpada de fenda [15].

Received 28 November 2011; accepted 28 November 2011

\*Correspondência: EASL Office, 7 rue des Batoirs, CH 1205 Genebra, Suíça.

Tel.: +41 22 807 0360; fax: +41 22 328 0724.

Endereço de email: easloffice@easloffice.eu



## Disclaimer:

The Portuguese version of this guide is a translation of the original English version and is provided for information purposes only. In case of any discrepancy, the English original will prevail. EASL makes no warranty of any kind with respect to any translated guide.

## Recomendações de Orientação Clínica

Os sinais neurológicos são variáveis, os mais habituais são tremores, ataxia e distonia. Os sinais de doença hepática não são específicos, mas qualquer doença hepática de origem desconhecida deve ser considerada doença de Wilson até que se prove em contrário. A vigilância do diagnóstico é importante, uma vez que os anéis de Kayser–Fleischer podem estar ausentes em até 50% dos doentes com doença de Wilson com acometimento hepático [12].

Tabela 1. (A) Sistema GRADE conforme usado nas Recomendações de Orientação Clínica da EASL [159]. (B) Sistema de recomendações conforme usado nas Recomendações de Orientação da AASLD [130].

A	
Grau	Evidência
I	Ensaio clínico controlado aleatorizado
II-1	Ensaio clínico controlado sem aleatorização
II-2	Estudos analíticos de coorte ou controlo de caso
II-3	Séries temporais, experiências não controladas
III	Opiniões de peritos, epidemiologia descritiva

Evidência	Descrição	
Elevada qualidade	É muito improvável que investigação adicional mude a nossa confiança na estimativa do efeito	A
Moderada qualidade	É provável que a investigação adicional tenha um impacto importante na nossa confiança na estimativa do efeito e pode alterar a estimativa	B
Baixa qualidade	É provável que a investigação adicional tenha um impacto importante na nossa confiança na estimativa do efeito e é provável que altere a estimativa. Qualquer estimativa do efeito é incerta	C

Recomendação		
Forte	Os fatores que influenciam a solidez da recomendação incluem a qualidade da evidência, os presumíveis resultados relevantes para os doentes e o custo	1
Fraca	Variabilidade nas preferências e valores ou mais incerteza. A recomendação é feita com menor certeza, maior consumo de recursos ou custos mais elevados	2

B	
Classificação	Descrição
Classe I	Patologias para as quais a evidência e/ou um consenso geral sobre um dado procedimento ou tratamento são benéficos, úteis e eficazes
Classe II	Condições para as quais existem evidências contraditórias e/ou opiniões divergentes acerca da utilidade/eficácia de um procedimento ou tratamento
Classe IIa	Peso da evidência/opinião é a favor da sua utilidade/eficácia
Classe IIb	A utilidade/eficácia não é tão bem estabelecida pela evidência/opinião
Classe III	Patologias para as quais existe evidência e/ou um consenso geral que um procedimento/tratamento não é útil/eficaz e em alguns casos pode ser prejudicial

Nível de evidência	Descrição
Nível A	Dados retirados de múltiplos ensaios clínicos aleatorizados ou de metanálises
Nível B	Dados retirados de um único ensaio clínico aleatorizado, ou de estudos não aleatorizados
Nível C	Apenas um parecer consensual de peritos, séries de casos ou cuidados padrão

### Doença hepática

Qualquer tipo de doença hepática pode ser encontrada em doentes com doença de Wilson. Uma doença hepática clinicamente evidente pode preceder as manifestações neurológicas em até 10 anos e a maior parte dos doentes com sintomas neurológicos tem algum grau de doença hepática na apresentação. As manifestações da doença hepática podem ser amplamente variáveis, desde doentes assintomáticos, apenas com anomalias bioquímicas, a cirrose evidente com todas as suas complicações inerentes. A doença de Wilson pode ainda manifestar-se como insuficiência hepática aguda, por vezes associada a anemia hemolítica Coombs negativa e à insuficiência renal aguda. Os doentes diagnosticados com doença de Wilson que tenham um historial de icterícia podem ter apresentado anteriormente um episódio de hemólise. Os sintomas clínicos encontram-se resumidos na Tabela 2.

### Insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson (anterior: «doença de Wilson fulminante »)

A doença de Wilson é tida em consideração no diagnóstico diferencial de qualquer doente jovem que apresente hepatite aguda. A sua apresentação clínica pode ser indistinguível da hepatite viral aguda, com icterícia e desconforto abdominal. Em alguns doentes, os sintomas desaparecem de forma espontânea mas, uma vez feito o diagnóstico, é necessário um tratamento para a vida. Por outro lado, a deterioração rápida pode ocorrer juntamente com a insuficiência hepática aguda.

A doença de Wilson é responsável por 6 a 12% de todos os doentes com insuficiência hepática aguda que tenham sido encaminhados para um transplante de emergência [16,17].

Embora a cirrose já esteja presente na maior parte dos casos, a apresentação clínica é aguda e evolui rapidamente para a insuficiência renal e hepática e, quando não é tratada, é responsável por quase 95% da mortalidade. A insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson ocorre predominantemente em mulheres jovens (rácio mulheres: homens 4:1) [18]. Uma apresentação aguda com deterioração rápida pode também ocorrer em doentes que haviam sido anteriormente tratados mas que pararam a medicação [16].

[A suspeita de doença de Wilson aguda deve ser particularmente elevada em doentes com icterícia acentuada, hemoglobina baixa, colinesterase baixa [17], aminotransferases apenas ligeiramente aumentadas e fosfatase alcalina baixa.

### Hepatite crónica e cirrose

Muitos doentes apresentam sinais de doença hepática crónica e evidência de cirrose, quer seja compensada ou descompensada. Os doentes podem apresentar esplenomegalia isolada devido a cirrose clinicamente assintomática com hipertensão portal. A apresentação pode ser indistinguível de outras formas de hepatite crónica, com sintomas que incluem icterícia, mal-estar geral e queixas abdominais inespecíficas.

### Hemólise

A anemia hemolítica Coombs-negativa pode ser o único sintoma inicial da doença de Wilson. No entanto, a hemólise

Tabela 2. Sintomas clínicos em doentes com doença de Wilson que se apresentam com doença hepática.

Autor, País, [Ref.]	Walshe, Rei-no Unido, [157]	Stremmel <i>et al</i> , Alemanha, [39]	Schilsky <i>et al.</i> , EUA, [142]	Scott <i>et al.</i> , Reino Unido, [158]	Ferenci, Áustria, [44]
N com doença hepática (em)	87 (>250)	n.a. (51)	20* (320)	17* (45)	30 (64)
Sintomas apresentados					
Icterícia, anorexia, vômitos (%)	44	14	15	41	37
Ascite/edema (%)	26	14	50	24	23
Hemorragia varicosa (%)	6		10	6	3
Diátese hemorrágica (%)	8				3
Hemólise (%)	20	10	5		10
Hepatomegalia/esplenomegalia (%)	16	49	15	29	17
Insuficiência hepática aguda (%)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17
Assintomática§ (%)		18	5		23

\* Apenas nos casos com hepatite crónica ativa.

§ ALT elevada em testes de rotina, ou achado acidental de cirrose ou de anéis de Kayser-Fleischer.

acentuada é comumente associada a doença hepática grave. A deterioração das células hepáticas pode resultar na libertação de grandes quantidades de cobre armazenado, o que agrava ainda mais a hemólise. Numa série, a hemólise era uma manifestação em 25 de 220 casos (12%); nestes doentes, a hemólise ocorreu como um episódio agudo único ou recorrente, ou de baixo grau e crónico [18]. Numa série com 283 doentes japoneses com doença de Wilson, só três apresentaram hemólise aguda isolada [19]. Um quarto dos doentes que apresentaram icterícia também tinham hemólise. A doença hepática aguda e a hemólise como sintoma de apresentação podem ocorrer durante o parto, simulando o síndrome de HELLP [20]. A hemólise de baixo grau pode estar associada à doença de Wilson, inclusivamente quando a doença hepática não é clinicamente evidente. Alguns doentes que apresentam sintomas neurológicos indicam que experienciaram episódios passageiros de icterícia no passado, provavelmente devido à hemólise [21]. Por outro lado, a deterioração rápida pode ocorrer juntamente com a insuficiência hepática aguda.

### Doença neurológica

A doença de Wilson pode manifestar-se através de um notável espectro de perturbações do foro neurológico, comportamental ou psiquiátrico, que podem ser a sua primeira manifestação clínica, surgindo em simultâneo com sinais hepáticos ou alguns anos mais tarde.

A apresentação neurológica pode ser extremamente subtil e intermitente durante vários anos, mas pode também desenvolver-se muito rapidamente, levando em alguns meses à incapacidade total. As anomalias neurológicas podem ser classificadas como: (1) síndrome acinétoia-rígida semelhante à doença de Parkinson; (2) Pseudosclerose dominada por tremores; (3) Ataxia e (4) síndrome distónico. Em muitos casos, os sinais neurológicos são muito difíceis de classificar, pois os doentes podem apresentar mais do que uma anomalia, cada uma das quais com diferentes graus de gravidade. Os tremores característicos são um tremor proximal grosseiro e irregular com aspeto de «bater de asas». A distonia pode ser focal, segmentar ou muito grave, envolvendo todas as partes do corpo e provocando contraturas graves. Deficiências motoras muito comuns envolvem a região craniana e manifestam-se clinicamente como disartria (pode ser cerebelar ou

extrapiramidal, provocando afonia), sialorreia ou distonia orofaríngea. As caretas, o queixo caído, o escorrimento de saliva e a retração labial também são manifestações características. As alterações do discurso e a sialorreia são muitas vezes sintomas neurológicos precoces. A síndrome de tremor-rigidez (“parkinsonismo juvenil”) deve aumentar a suspeita da doença de Wilson [22–24].

Devido à dificuldade crescente em controlar os movimentos ou à distonia progressiva, os doentes ficam confinados à cama e não conseguem tratar deles próprios.

Em última instância, os doentes tornam-se gravemente incapacitados, normalmente em alerta mas impossibilitados de falar. Em doentes que apresentam doença hepática avançada, os sintomas neurológicos podem ser confundidos com sinais de encefalopatia hepática.

### Sintomas psiquiátricos

Os sintomas comportamentais e psiquiátricos são comuns e alguns deles podem preceder sinais e sintomas neurológicos ou hepáticos. Cerca de um terço dos doentes inicialmente apresentam anomalias psiquiátricas. Nas crianças com doença de Wilson, são observados a diminuição do desempenho escolar, alterações de personalidade, a impulsividade, o humor instável, o exibicionismo sexual e comportamentos inapropriados [24,25]. Os sintomas iniciais são frequentemente mal diagnosticados como problemas comportamentais associados à puberdade. Em pessoas mais velhas, podem ser observadas características psicóticas que se assemelham a paranoia, esquizofrenia ou depressão, mas as mudanças comportamentais também são comuns. A deterioração cognitiva grave é observada nos doentes com doença neurológica avançada, mas, no geral, a função cognitiva não é marcadamente prejudicada [26].

O diagnóstico de doença de Wilson tardio em doentes com apresentações neuropsiquiátricas é frequente e, num caso, tardou 12 anos [27]. Os doentes com sintomas neuropsiquiátricos podem sofrer de doença hepática sintomática paralela, mas na maioria dos doentes, as doenças hepáticas só podem ser detetadas por exames laboratoriais, estudos imagiológicos do fígado ou por histologia hepática. Cerca de metade dos doentes têm fibrose avançada ou cirrose importante. Por outro lado, os sinais de doença hepática podem estar completamente ausentes na biopsia [28].

## Outras manifestações clínicas

Apresentações menos comuns incluem o gigantismo, meia-lua, anomalias renais, incluindo aminoacidúria e nefrolitíase, hipercalcúria e nefrocalcinose [29,30], cardiomiopatia [31], miopatia [32], condrocalcinose e osteoartrite [33], hipoparatiroidismo [34], pancreatite [35], infertilidade ou abortos espontâneos de repetição [36,37].

## Prognóstico

A doença de Wilson não tratada é universalmente fatal, a maioria dos doentes morre de doença hepática e uma minoria de complicações de doença neurológica progressiva. Com tratamento quelante e transplante hepático, a sobrevida prolongada tornou-se a norma [27,38,39], embora a mortalidade não tenha sido avaliada prospetivamente.

Tabela 3. Índice do prognóstico na doença de Wilson [40], modificado por Dhawan et al. [41].

	1*	2*	3*	4*
Bilirrubina sérica (µmol/l)	100-150	151-200	201-300	>300
AST (U/l)	100-150	151-300	301-400	>400
INR	1.3-1.6	1.7-1.9	2.0-2.4	>2.4
Leucócitos [10 <sup>9</sup> /l]	6.8-8.3	8.4-10.3	10.4-15.3	>15.3
Albumina [g/l]	34-44	25-33	21-24	<21

\* = Pontuação, limite superior ao normal para AST = 20 UI/ml (em King's College). Uma pontuação ≥11 está associada a uma elevada probabilidade de morte na ausência de transplante hepático.

Em geral, o prognóstico para a sobrevida depende da gravidade da doença hepática e neurológica e da adesão ao tratamento farmacológico. A função hepática normaliza ao longo de 1 a 2 anos de tratamento na maior parte dos doentes sem ou com cirrose compensada na apresentação e, de seguida, permanece estável sem progressão da doença hepática, com a adesão ao tratamento. No outro extremo do espectro, a terapêutica médica raramente é eficaz em doentes com insuficiência hepática aguda devido a doença de Wilson, principalmente devido ao tempo necessário para a remoção do cobre tóxico do organismo. Um índice de prognóstico foi desenvolvido [40] e mais tarde modificado por Dhawan *et al.* [41]. Uma pontuação superior a 11 é sempre fatal sem transplante

hepático (Tabela 3). Os doentes que apresentam sintomas neurológicos têm um desfecho mais positivo em relação à esperança de vida, especialmente se a doença hepática for limitada. Contudo, os sintomas neurológicos são reversíveis apenas em parte com o tratamento e podem piorar na sequência do início do tratamento.

Em doentes submetidos a transplante ortotópico de fígado, a sobrevida pode estar ligeiramente reduzida no início, mas parece normalizar (para a população transplantada) daí em diante [42].

## Diagnóstico diferencial

A hepatite aguda com a doença de Wilson apresenta-se de forma semelhante a quaisquer outros casos de hepatite aguda. De igual forma, a doença de Wilson deve ser tida em consideração no diagnóstico de todos os doentes com hepatite crónica e cirrose, uma vez que as alterações na histologia de rotina não são específicas. A doença de Wilson deve ser tida em consideração quando a hepatite aguda é acompanhada de um aparecimento rápido de icterícia e anemia hemolítica. Durante a adolescência, a doença de Wilson com apresentação de sintomas neurológicos pode ser mal diagnosticada como um problema comportamental, pois os sintomas iniciais podem ser subtis. A perturbação avançada do movimento num jovem deve chamar a atenção para a possibilidade de doença de Wilson, mas o diagnóstico pode ser ignorado, se a apresentação sugerir uma doença primariamente psicológica ou psiquiátrica.

## Métodos de diagnóstico

Tipicamente, a combinação de anéis de Kayser–Fleischer e um nível baixo de ceruloplasmina sérica (<0,1 g/l) são suficientes para estabelecer o diagnóstico. Quando os anéis de Kayser–Fleischer não estão presentes (como é comum na manifestação hepática da doença de Wilson), os níveis de ceruloplasmina nem sempre são fiáveis pois podem ser baixos devido a motivos não relacionados com a doença de Wilson (por ex., hepatite autoimune, insuficiência hepática grave na doença hepática avançada, na doença celíaca e na aceruloplasminemia familiar) [43] ou nos portadores heterozigóticos de mutações do ATP7B que não apresentam doença de sobrecarga de cobre. Por outro lado, a inflamação no

Tabela 4. Testes de rotina para o diagnóstico da doença de Wilson.

Teste	Achado típico	Falso «negativo»	Falso «positivo»
Ceruloplasmina sérica	Diminuída em 50% de do valor inferior normal	Níveis normais em doentes com inflamação hepática acentuada Sobre-estimativa no ensaio imunológico Gravidez, terapêutica com estrogénios	Baixos níveis em: - malabsorção - aceruloplasminemia - heterozigotos
Cuprúria de 24 horas quanto a cobre	> 1,6 µmol/24 h > 0,64 µmol/24 h em crianças	Normal: - colheita incorreta - crianças sem doença hepática	Aumentado: - necrose hepatocelular - colestase - contaminação
Cobre plasmático livre	>1,6 µmol/l	Norma, em caso de sobre-estimativa da ceruloplasmina na análise imunológica	
Cobre hepático	>4 µmol/g em peso seco	Devido à variação regional - em doentes com doença hepática ativa - em doentes com nódulos regenerativos	Síndromes colestáticas
Anéis de Kayser–Fleischer por exame com lâmpada de fenda	Presente	Ausente - em até 50% dos doentes com doença de Wilson hepática - na maior parte dos irmãos assintomáticos	Cirrose biliar primária

Tabela 5. Sistema de pontuação desenvolvido na 8.<sup>a</sup> Reunião Internacional da doença de Wilson, em Leipzig, em 2001 [44].

Sintomas e sinais clínicos típicos		Outros testes	
Anéis de KF		Cobre no fígado (na ausência de colestase)	
Presente	2	>5x LSN (>4 µmol/g)	2
Ausente	0	0,8-4 µmol/g	1
Sintomas neurológicos**		Normal (<0,8 µmol/g)	-1
Grave	2	Grânulos rodantina-positivos*	1
Moderado	1	Cobre na urina (na ausência de hepatite aguda)	
Ausente	0	Normal	0
Ceruloplasmina sérica		1-2x LSN	1
Normal (>0,2 g/l)	0	>2x LSN	2
0,1-0,2 g/l	1	Normal, mas >5x LSN após D-penicilamina	2
<0,1 g/l	2	Análise de mutações	
Anemia hemolítica Coombs-negativa		Detetada em ambos os cromossomas	4
Presente	1	Detetada em 1 cromossoma	1
Ausente	0	Nenhuma mutação detetada	0
PONTUAÇÃO TOTAL		Avaliação:	
4 ou mais		Diagnóstico estabelecido	
3		diagnóstico possível, mais testes necessários	
2 ou menos		Diagnóstico muito improvável	

\* Sem quantificação disponível de cobre no fígado, \*\*ou anomalias típicas nas imagens cerebrais de ressonância magnética. KF, Kayser-Fleischer; LSN, limite superior do normal.

fígado ou noutro local pode fazer com que a concentração de ceruloplasmina suba até níveis normais, refletindo a sua identidade como uma proteína de fase aguda. Isto também é verdadeiro para o tratamento com estrogénios. Por conseguinte, para muitos doentes, a combinação com testes que reflitam um metabolismo perturbado do cobre pode ser necessária. Não existe apenas um teste único específico per se e, por conseguinte, deve ser aplicada uma série de testes (Tabela 4). Uma pontuação de diagnóstico baseada em todos os testes disponíveis foi proposta pelo Grupo de Trabalho, na 8.<sup>a</sup> Reunião Internacional da doença de Wilson, em Leipzig, em 2001 [44] (Tabela 5). O sistema de pontuação da doença de Wilson fornece uma boa acuidade diagnóstica [45]. O algoritmo de diagnóstico baseado nesta pontuação é apresentado na Fig. 1.

*Ceruloplasmina sérica*

A ceruloplasmina é o principal transportador de cobre no sangue. Contém seis átomos de cobre por molécula (holoceruloplasmina) mas pode estar presente como proteína sem o cobre (apoceruloplasmina). A ceruloplasmina consiste num reagente de fase aguda que possui uma atividade de ferroxidase [46]. Os níveis de ceruloplasmina sérics podem ser medidos enzimaticamente, pela sua atividade de oxidação dependente do cobre em relação a substratos específicos, ou por ensaios dependentes de anticorpos, tais como radioensaio, imunodifusão radial ou nefelometria. Os testes imunológicos podem sobre-estimar as concentrações de ceruloplasmina, uma vez que não discriminam entre apoceruloplasmina e holoceruloplasmina. A concentração normal de ceruloplasmina medida pelo ensaio enzimático varia entre laboratórios (com um limite inferior de 0,15 a

0,2 g/l). Na doença de Wilson, é normalmente inferior a 0,1 g/l. As concentrações séricas de ceruloplasmina encontram-se elevadas devido à inflamação aguda, em estados associados à hiperestrogenémia tais como na gravidez e na toma de suplementos de estrogénio. Ceruloplasmina sérica encontra-se tipicamente diminuída em doentes com doença de Wilson neurológica, mas pode estar no intervalo inferior do normal em cerca de metade dos doentes com doença hepática de Wilson ativa. Por outro lado, a ceruloplasmina sérica pode ser baixa noutras patologias com uma perda de proteínas renais ou entérica acentuada, em síndromes de malabsorção ou uma doença hepática terminal grave de qualquer etiologia. Aproximadamente 20% dos heterozigotos têm níveis diminuídos de ceruloplasmina sérica [1,47]. doentes com déficit de aceruloplasminémia não têm a proteína de todo, devido a mutações no gene da ceruloplasmina no cromossoma 3. Estes doentes podem exibir hemossiderose mas não apresentarem acumulação de cobre [48]. Por conseguinte, a ceruloplasmina sérica por si só não é suficiente para diagnosticar ou excluir a doença de Wilson. Um estudo prospetivo na ceruloplasmina sérica como teste de rastreio da doença de Wilson em doentes diagnosticados com doença hepática mostrou que uma

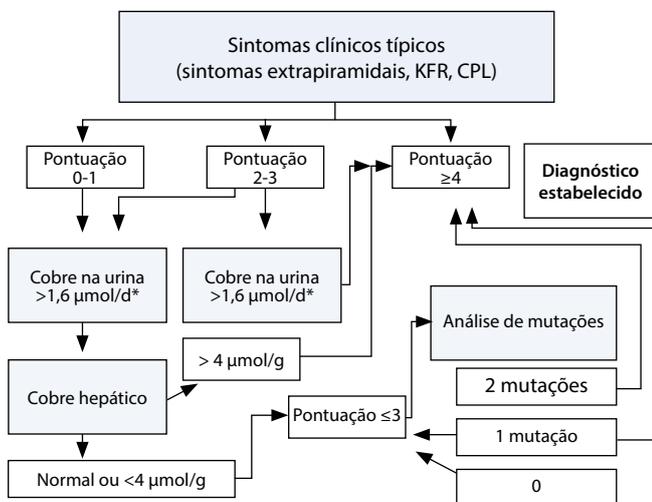


Fig. 1. Algoritmos de diagnóstico para a doença de Wilson baseada na Pontuação de Leipzig [44].

\* Nas crianças, o ponto limite pode ser diminuído para 0,64 µmol/d.

## Recomendações de Orientação Clínica

ceruloplasmina subnormal tinha um valor preditivo positivo de apenas 6%. Em crianças com doença de Wilson, 15-36% tinham a ceruloplasmina no intervalo normal [14,49]. Numa série, 12 em 55 doentes com doença de Wilson tinham ceruloplasmina normal e não tinham anéis de Kayser-Fleischer [12]. O valor preditivo de ceruloplasmina para o diagnóstico de doença de Wilson em insuficiência hepática aguda é baixo [50]. Num estudo recentemente publicado, a medição da atividade da oxidase da ceruloplasmina sérica foi superior análise aos ensaios imunológicos para o diagnóstico da doença de Wilson, mas estes ensaios não estão por regra disponíveis em laboratórios de rotina [51].

### Cobre sérico

Embora seja uma doença de excesso de cobre, o cobre sérico total (que inclui o cobre incorporado na ceruloplasmina) na doença de Wilson encontra-se normalmente diminuído em relação à ceruloplasmina diminuída na circulação. Em doentes com lesões hepáticas graves, o cobre sérico pode encontrar-se no intervalo normal, independentemente de os níveis de ceruloplasmina no plasma serem elevados. No contexto da insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson, os níveis do cobre sérico podem inclusivamente estar bastante elevados, devido à libertação súbita de metal das reservas no tecido hepático. Os níveis de cobre normais ou elevados no soro, face aos níveis diminuídos de ceruloplasmina indicam um aumento na concentração de cobre não ligado à ceruloplasmina no sangue (cobre não ligado à ceruloplasmina). O cobre não ligado à ceruloplasmina (ou «cobre livre») pode ser calculado subtraindo o cobre ligado à ceruloplasmina ( $3,15 \times$  ceruloplasmina em mg/l equivale à quantidade de cobre ligado à ceruloplasmina em  $\mu\text{g/l}$ ) ao total da concentração de cobre sérico (em  $\mu\text{m/l}$ ; o cobre sérico em  $\mu\text{mol/l} \times 63,5$  equivale a cobre sérico em  $\mu\text{g/l}$ ) [52]. Propôs-se que a concentração de cobre não ligado à ceruloplasmina sérica fosse um teste de diagnóstico na doença de Wilson [53]. Na maior parte dos doentes não tratados, encontra-se elevado acima de  $200 \mu\text{g/l}$ . A concentração de cobre não ligado à ceruloplasmina sérica pode encontrar-se elevado na insuficiência hepática aguda de qualquer etiologia, na colestase crónica [54] e em casos de intoxicação por cobre. O grande problema com o cobre não ligado à ceruloplasmina enquanto teste de diagnóstico para a doença de Wilson é que está dependente da adequação dos métodos para a medição do cobre sérico e da ceruloplasmina. É mais útil na monitorização da farmacoterapia do que no diagnóstico da doença de Wilson.

### Excreção urinária de cobre

A quantidade de cobre excretado na urina ao longo de um período de 24 horas pode ser útil para diagnosticar a doença de Wilson e para monitorizar o tratamento. Nos doentes não tratados, uma excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas reflete a quantidade de cobre não ligada à ceruloplasmina na circulação. O volume exato de urina e o total de excreção de creatinina ao longo de 24 horas são importantes para uma determinação precisa da excreção de cobre na urina. No caso de insuficiência renal, o teste não é aplicável. Em doentes sintomáticos não tratados, a excreção de cobre «basal» supe-

rior a  $1,6 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  ( $100 \mu\text{g}/24 \text{ h}$ ) é considerada como sendo indicativa de doença de Wilson [5]. Contudo, a excreção de cobre na urina ao longo de 24 horas basal pode ser inferior a  $1,6 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  no momento da apresentação em 16–23% dos doentes, em especial em crianças com irmãos assintomáticos [12,14,55]. Uma vez que a excreção de cobre na urina é insignificante em indivíduos saudáveis [56], uma excreção do cobre na urina superior a  $0,64 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  pode ser sugestiva da doença de Wilson em crianças assintomáticas. Os problemas da medição da excreção do cobre ao longo de 24 horas inclui uma colheita de urina incompleta e, por outro lado, a contaminação com cobre do dispositivo de colheita (isto não é tão problemático com o surgimento de recipientes descartáveis). A interpretação da excreção de cobre na urina ao longo de 24 horas pode ser difícil devido à sobreposição com os achados noutros tipos de doença hepática (por ex., hepatite autoimune, doença hepática crónica ativa ou colestase e, em particular, durante a insuficiência hepática aguda de qualquer origem). Os heterozigotos também podem ter uma excreção mais elevada de cobre do que os grupos de controlo, que raramente ultrapassam os níveis do intervalo normal [57].

A excreção de cobre na urina com a administração de D-penicilamina foi considerada como sendo um teste de diagnóstico útil. Este teste só foi padronizado numa população pediátrica na qual  $500 \text{ mg}$  de D-penicilamina foi administrada oralmente no início e novamente 12 horas mais tarde, durante uma colheita de urina de 24 horas, independentemente do peso corporal [58]. Comparando com o espectro de outras doenças hepáticas, incluindo a hepatite autoimune, a colangite esclerosante primária e a insuficiência hepática aguda, foi encontrada uma diferenciação clara quando mais de  $25 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  foram excretadas. A reavaliação deste teste em doentes pediátricos voltou a confirmar o valor no diagnóstico da doença de Wilson com doença hepática ativa, mas não foi fiável o suficiente para excluir o diagnóstico em irmãos assintomáticos [59]. Em comparação com crianças com outras doenças hepáticas, o teste de D-penicilamina teve uma sensibilidade de apenas 12,5%. Contudo, dados de Dhawan *et al.* e de Nicastro *et al.* sugerem agora que a utilização de um limiar mais baixo para a excreção do cobre na urina (sem a estimulação de D-penicilamina) de apenas  $0,64 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  aumenta a sensibilidade do teste e elimina a necessidade de testar a estimulação com a D-penicilamina [41,45].

O desafio do teste de penicilamina foi usado em adultos, mas muitos dos resultados indicados deste teste utilizaram dosagens e tempos diferentes na administração da D-penicilamina [12,53,56]. Assim, não se recomenda utilizar este teste no diagnóstico da doença de Wilson em adultos.

### Concentração de cobre no parênquima hepático

A acumulação de cobre no fígado é a característica diferenciadora da doença de Wilson. Contudo, colorações específicas como rodamina ou orceína revelaram reservas de cobre focais em menos de 10% de doentes, uma vez que detetam apenas depósitos de cobre lisossómicos. Por conseguinte, o excesso de cobre no fígado não pode ser excluído pela avaliação histoquímica de uma biópsia ao fígado isolada. Como tal, a medição da concentração do cobre no parênquima hepático

é o método de eleição para o diagnóstico da doença de Wilson. As biopsias para a determinação quantitativa do cobre devem ser colocadas secas num recipiente isento de cobre. O envio para a determinação quantitativa do cobre não exige precauções especiais, como o congelamento. No geral, a acuidade da medição é melhorada com um tamanho da amostra adequado: deve ser enviado para análise biopsia com pelo menos 1 cm [62]. As amostras embebidas em parafina também podem ser analisadas quanto ao conteúdo de cobre, mas podem ser menos fiáveis se uma amostra for pequena. O conteúdo de cobre hepático  $>4 \mu\text{mol/g}$  de peso seco é considerado como a melhor evidência bioquímica para a doença de Wilson. Diminuição do limiar de  $4 \mu\text{mol/g}$  de peso seco para  $1,2 \mu\text{mol/g}$  de peso seco melhorou a sensibilidade de 83,3% para 96,5%, enquanto a especificidade permaneceu aceitável (95,4% vs. 98,6%) [28]. O principal problema com a concentração de cobre no parênquima hepático é a distribuição não homogênea do cobre no fígado nos estádios mais avançados da doença de Wilson. Por conseguinte, a concentração pode ser subestimada devido a erros de amostragem. Em cerca de 18% de doentes adultos, as concentrações de cobre hepático estão apenas entre 0,8 e  $4 \mu\text{mol/g}$  de peso seco, com algumas inclusivamente no intervalo normal [28]. Num estudo pediátrico, um erro da amostra foi suficientemente comum para tornar este teste pouco fiável em doentes com cirrose [60]. Por outro lado, em distúrbios colestáticos de longa duração, os conteúdos de cobre hepáticos podem também estar aumentados. Os níveis significativamente elevados de cobre hepático também podem ser encontrados em síndromes idiopáticas de intoxicação por cobre tais como na cirrose infantil indiana [61].

#### *Histologia do fígado*

Para fins diagnósticos, uma biopsia do fígado só é necessária se sinais clínicos e testes não invasivos não permitirem um diagnóstico final, ou se existir a suspeita de patologias adicionais do fígado [62].

As anomalias histológicas precoces no fígado incluem esteatose moderada (tanto microvesicular como macrovesicular), núcleos glicogenados em hepatócitos e necrose hepatocelular focal [62,63]. Frequentemente, estas alterações são incorretamente diagnosticadas como fígado gordo não-alcoólico (FGNA) ou esteatohepatite não alcoólica (NASH). Uma biópsia do fígado pode mostrar características histológicas clássicas de hepatite autoimune (a chamada imagem de «hepatite ativa crónica»).

Com os danos progressivos no parênquima, desenvolve-se a fibrose e a cirrose subsequentes. Cerca de metade dos doentes tem cirrose no momento do diagnóstico [28]. Existem alguns doentes mais velhos com doença de Wilson que não têm cirrose nem mesmo sinais de doença hepática [5,12]. No contexto de insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson, existe uma degeneração hepatocelular acentuada e o colapso do parênquima, normalmente devido a um contexto de cirrose. A apoptose dos hepatócitos é uma característica proeminente durante lesões agudas [64].

A deteção do cobre nos hepatócitos através de uma avaliação histoquímica de rotina é altamente variável. Especialmente nas

fases iniciais da doença, o cobre encontra-se maioritariamente presente no citoplasma ligado à metalotioneína e não é histoquimicamente detetável [65]. A quantidade de cobre varia de nódulo para nódulo no fígado cirrótico e pode variar de célula para célula nas fases pré-cirróticas. A ausência de cobre histoquimicamente identificável não exclui a doença de Wilson. Os complexos de cobre lisossómico podem ser corados com vários métodos, incluindo o corante de rodanina ou orceína.

A análise ultraestrutural das amostras hepáticas no momento em que a esteatose está presente revela anomalias mitocondriais específicas [66]. Os achados típicos incluem a variabilidade na forma e no tamanho, a densidade aumentada do material da matriz e inúmeras inclusões, incluindo lípidos e material granular fino que pode ser cobre. A alteração mais surpreendente é o espaço intracristal aumentado com dilatação das pontas das cristas, criando um aspeto cístico [66]. Na ausência da colestase, estas alterações são consideradas como sendo essencialmente patognomónicas da doença de Wilson. Nas fases mais avançadas da doença, estão presentes densos depósitos nos lisossomas. A análise ultraestrutural pode ser um complemento útil para o diagnóstico.

#### *Achados neurológicos e imagens radiológicas do cérebro*

A avaliação neurológica deve ser realizada também em doentes com doença de Wilson pré-sintomática e hepática. Deve ser feita uma consulta num neurologista para avaliação de doentes com sintomas neurológicos evidentes antes do tratamento ou pouco tempo após o tratamento ser iniciado.

A doença neurológica pode manifestar-se sob a forma de anomalias motoras com características parkinsonianas de distonia, hipertonia e rigidez, coreica ou pseudoesclerótica, com tremores e disartria. Devido à grande variabilidade dos sinais neurológicos, as diferenças na sua gravidade e a presença simultânea de diferentes sinais num doente, a descrição clínica é muito difícil. Ainda não existe uma escala comumente aceite que descreva os sinais neurológicos e a sua gravidade. Uma proposta recente é a Escala de Classificação da doença de Wilson Unificada (ECDWU) [67,68].

As imagens de ressonância magnética (RM) ou de tomografia computadorizada do cérebro podem detetar anomalias estruturais nos gânglios da base [69]. Os achados mais frequentes são a densidade aumentada em tomografia computadorizada ou hiperintensidade no T2 da RM, na região dos gânglios basais. A RM pode ser mais sensível na deteção destas lesões. Os achados anómalos não se limitam a esta região e foram descritas outras anomalias. Um achado característico da doença de Wilson é o sinal «cara do panda gigante» [70,71], mas só se observa numa minoria de doentes. Além deste sinal, as hiperintensidades na placa tectal e na ponte central (de tipo CPM) e o envolvimento simultâneo dos gânglios da base, do tálamo e do tronco cerebral são patognomónicos da doença de Wilson [72]. As anomalias significativas nas imagens cerebrais podem ainda estar presentes em alguns indivíduos antes do início dos sintomas [69].

Outras técnicas de neuroimagem como a espectroscopia por ressonância magnética [70] e a tomografia computadorizada de emissão de fóton único (SPECT) podem ser úteis na deteção precoce de lesões cerebrais na doença de Wilson, não

## Recomendações de Orientação Clínica

apenas na perspectiva de avaliação e tratamento de deficiências motoras, mas também numa avaliação mais precisa de distúrbios menos investigados do domínio cognitivo [73]. A ecografia do parênquima cerebral transcraniano (ETC) deteta hiperecogenicidade do núcleo lenticular mesmo quando na RM não são observadas anomalias [74], mas isto deve ser confirmado com estudos adicionais [75].

Os potenciais do tronco cerebral de evocação auditiva são úteis para documentar o grau de deficiência funcional e a melhoria do tratamento [76,77].

### Testes genéticos

O diagnóstico molecular-genético direto é difícil, uma vez que existem mais de 500 mutações possíveis; exceto algumas mutações mais frequentes, quase todas elas são raras [78]. Além disso, a maior parte dos doentes são heterozigotos compostos (ou seja, portadores de duas mutações diferentes). Um rastreio molecular-genético exaustivo leva vários meses, o que faz deste um método pouco prático. Não obstante, é razoável realizar uma análise molecular ao gene ATP7B em qualquer doente que tenha sido diagnosticado preventivamente com doença de Wilson, tanto para fins de confirmação como para facilitar o posterior despiste dos familiares.

Pela sua parte, as sondas específicas dos alelos permitem a identificação direta de uma mutação, o que pode ser rápido e clinicamente muito útil. Contudo, isto só pode ser alcançado se ocorrer uma mutação com uma frequência razoável na população (por ex., H1069Q na Europa Central [79], -441/-427

na Sardenha [80,81], R778L no Extremo Oriente [82-84]). Nestes casos, a identificação da mutação pode corroborar o diagnóstico, enquanto a identificação de duas mutações irá confirmar o diagnóstico. Com o avanço do diagnóstico à base de ADN, como o desenvolvimento de um chip único capaz de identificar as mutações mais comuns, estas recomendações podem sofrer alterações.

### Insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson

O aspeto mais desafiante é o diagnóstico de insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson, pois a mortalidade sem o transplante do fígado de emergência é muito alta. Análises laboratoriais prontamente disponíveis, incluindo a fosfatase alcalina (FA), a bilirrubina e as aminotransferases séricas fornecem o método mais rápido e preciso para o diagnóstico de insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson [85]. A combinação com um elevado rácio de elevação da AP/bilirrubina total <4 e um rácio de AST:ALT >2,2 gerou uma sensibilidade e especificidade diagnósticas de 100% [86]. Contudo, estes achados foram questionados por outros autores. Por conseguinte, estes parâmetros devem ser tidos em consideração em caso de suspeita de doença de Wilson aguda, mas devem ser usados em combinação com outros sinais e sintomas que sugiram a doença de Wilson. A combinação de sintomas clínicos e dos parâmetros de diagnóstico da doença de Wilson convencionais (ceruloplasmina, cobre no soro ou urina) são menos sensíveis e específicos, mas são importantes para o diagnóstico [86]. O diagnóstico deve ser

## Recomendação 1

- A doença de Wilson deve ser tida em consideração em qualquer indivíduo com anomalias no fígado ou distúrbios neurológicos dos movimentos de causa incerta. A idade por si só não deve constituir a base para eliminar um diagnóstico de doença de Wilson de  
**GRAU II-2, A, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- A doença de Wilson deve ser tida em consideração em qualquer doente com doença hepática não explicada em conjunto com distúrbios neurológicos ou neuropsiquiátricos  
**GRAU II-2, A, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- Os anéis de Kayser-Fleischer devem ser pesquisados por um examinador experiente usando uma lâmpada de fenda. A ausência de anéis de Kayser-Fleischer não exclui o diagnóstico de doença de Wilson, inclusive em doentes com uma doença predominantemente neurológica  
**GRAU II-2, A, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- A avaliação neurológica e imagiológica cerebral, de preferência por RM, devem ser tidas em consideração antes do tratamento em todos os doentes com doença de Wilson neurológica e devem fazer parte da avaliação de qualquer doente que apresente sintomas neurológicos consistentes com a doença de Wilson  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível C AASLD**
- Um nível de ceruloplasmina sérica baixo deve ser considerado como evidência para o diagnóstico de doença de Wilson. Os níveis no limite exigem avaliações adicionais. A ceruloplasmina sérica no intervalo normal não exclui necessariamente o diagnóstico  
**GRAU II-2, A, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- A excreção urinária do cobre basal >1,6 µmol ao longo de 24 horas é típica de doentes sintomáticos. Nas crianças com doença hepática ligeira a excreção urinária de cobre basal ao longo de 24 horas pode estar apenas ligeiramente elevada ou pode até estar no intervalo normal. A redução do limiar para >0,64 µmol/24 h pode ser útil para detetar doentes assintomáticos, mas será menos sensível e irá sobrepôr-se em doentes com outras lesões hepáticas  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível C AASLD**
- Depósitos de cobre no parênquima hepático >4 µmol/g de peso seco fornecem informações essenciais para o diagnóstico e devem ser obtidos nos casos em que o diagnóstico não é linear e em doentes jovens. Em doentes não tratados, depósitos de cobre hepático normais (<0,64-0,8 µmol/g de peso seco) excluem quase sempre a doença de Wilson  
**GRAU III, B, 2**  
**Classe I, nível B AASLD**
- A análise de mutações com sondas alélicas específicas ou através da sequenciação de todo o gene é atualmente possível e está disponível. Os testes específicos para mutações conhecidas ou análises de haplótipos devem ser o primeiro recurso para o rastreio de familiares de primeiro grau de doentes com doença de Wilson  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**

confirmado por biópsia hepática se possível pelo menos após o transplante (conteúdo de cobre hepático, análise de mutações) para permitir rastrear irmãos assintomáticos.

### Rastreo familiar

É fundamental rastrear a família de doentes que apresentem doença de Wilson, uma vez que a probabilidade de um irmão ser homocigótico – e, por conseguinte, de desenvolver a doença clínica – é de 25%. Nos descendentes, a probabilidade é de 0,5%. Embora este risco seja baixo, a análise do gene ATP7B para mutações nos filhos de um doente referenciado é justificada, dado a potencial evolução devastadora da doença de Wilson. É difícil diagnosticar portadores heterocigóticos com total certeza, mas pode ser feito o despiste de irmãos de um caso referenciado com uma mutação documentada pela análise das mutações.

Se a mutação do caso referenciado não for detetada, está disponível uma análise do genograma usando haplótipos com base em polimorfismos em torno do gene da doença de Wilson. Esta análise exige a identificação de um doente referenciado com um diagnóstico inquestionável da doença de Wilson na família. É necessário ter o ADN de ambos os progenitores. De seguida o haplótipo, com base no padrão de repetições de dinucleótido e trinucleótido em torno de ATP7B, é determinado no doente referenciado e na sua família. A herança de haplótipos «associados à doença» permite determinar se não se encontram afetados, se são heterocigóticos ou efetivamente doentes [78]. Os testes genéticos são o único método fiável de diferenciar irmãos heterocigóticos de irmãos homocigóticos.

### Tratamento

Está disponível uma série de medicamentos para o tratamento da doença de Wilson, incluindo a D-penicilamina, trientina, zinco, tetratiomolibdato e dimercaprol. Uma vez estabelecido o diagnóstico, o tratamento deve ser contínuo durante toda a vida. Não existe evidência de alta qualidade para prever os efeitos relacionados com o tratamento dos fármacos disponíveis na doença de Wilson. Por conseguinte, são necessários ensaios clínicos prospetivos multicêntricos, de comparação controlados e aleatorizados [87].

#### D-Penicilamina

O principal efeito da D-penicilamina na doença de Wilson é promover a excreção urinária de cobre. A D-penicilamina pode ainda atuar induzindo a metalotioneína [88]. A dose de manutenção é normalmente de 750–1500 mg/dia administrada em duas ou três tomas. A posologia em crianças é de 20 mg/kg/dia arredondados aos 250 mg mais próximos e administrados em duas ou três tomas. A D-penicilamina deve ser idealmente administrada 1 hora antes das refeições, uma vez que os alimentos inibem a sua absorção. Uma vez que a D-penicilamina tende a interferir na ação da piridoxina, devem ser fornecidos suplementos de piridoxina (25–50 mg/dia). A D-penicilamina interfere com a ligação cruzada do colagénio [89] e tem algumas ações imunossupressoras [90,91].

A adequação do tratamento pode ser monitorizada pela me-

dição da excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas durante o tratamento. Este é mais elevado imediatamente após o início do tratamento e pode ultrapassar 16  $\mu\text{mol}$  (1000  $\mu\text{g}$ ) em 24 horas. Para um tratamento de longa duração, o sinal mais importante de eficácia é a manutenção de melhoria clínica e laboratorial. A ceruloplasmina sérica pode diminuir após o início do tratamento. A excreção urinária de cobre deve encontrar-se próxima de 3 a 8  $\mu\text{mol}$  durante 24 horas em tratamento. Para documentar a eficácia terapêutica, a excreção urinária do cobre após 2 dias de suspensão da D-penicilamina deve ser  $\leq 1,6 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$ . Além disso, a estimativa de cobre não ligado à ceruloplasmina mostra a normalização da concentração de cobre não ligado à ceruloplasmina com o tratamento eficaz [92]. Valores de excreção urinária do cobre  $>1,6 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$  dois dias após a suspensão da D-penicilamina podem indicar a não adesão à terapêutica (nesses doentes, o cobre não ligado à ceruloplasmina está elevado  $>15 \mu\text{g}/\text{l}$ ).

A D-penicilamina é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal com uma curva de pico duplo para a absorção intestinal [93,94]. Se a D-penicilamina for tomada à refeição, a sua absorção diminui no geral em cerca de 50%. Uma vez absorvida, 80% da D-penicilamina circula ligada a proteínas plasmáticas. Mais de 80% da excreção da D-penicilamina é feita através dos rins. A semivida da excreção da D-penicilamina está na ordem das 1,7 a 7 horas, mas existe uma variação inter-individual considerável.

Inúmeros estudos atestam a eficácia da D-penicilamina como tratamento para a doença de Wilson [95–97]. Em doentes com doença hepática sintomática, a recuperação da função hepática sintética e a melhoria dos sinais clínicos ocorrem normalmente durante os primeiros 2 a 6 meses de tratamento, mas uma recuperação posterior pode ocorrer durante o primeiro ano de tratamento. A não adesão ao regime terapêutico leva à progressão significativa da doença hepática e à insuficiência hepática 1 a 12 meses após a descontinuação do tratamento.

Em doentes com doença de Wilson neurológica, a melhoria dos sintomas é mais lenta e pode ser observada inclusivamente após três anos [97]. O agravamento dos sintomas neurológicos foi relatado em 10 a 50% dos doentes tratados com D-penicilamina durante a fase inicial do tratamento. Numa série recente, o agravamento neurológico ocorreu nos três tratamentos usados para a doença de Wilson (D-penicilamina, trientina, zinco) mas principalmente com a D-penicilamina, com 13,8% dos doentes afetados de forma adversa [27]. A tolerabilidade à D-penicilamina pode ser melhorada ao iniciar o tratamento com doses incrementais, 125–250 mg/dia aumentadas em incrementos de 250 mg a cada 4 a 7 dias até um máximo de 1000–1500 mg/dia, em 2 a 4 tomas. A administração de doses de 1500 mg por dia ou superiores de uma só vez pode levar a uma deterioração neurológica rápida e muitas vezes irreversível. Uma nova readministração rápida do tratamento nos doentes que o suspenderam durante um período de tempo longo pode provocar sinais neurológicos irreversíveis.

A D-penicilamina está associada a inúmeros efeitos secundários. Os efeitos secundários graves que exigem que o medicamento seja descontinuado ocorrem em aproximadamente 30% dos doentes [95,98]. Reações de sensibilidade iniciais

## Recomendações de Orientação Clínica

marcadas por febre e erupções cutâneas, linfadenopatia, neutropenia ou trombocitopenia e proteinúria podem ocorrer durante as primeiras 1 a 3 semanas.

Uma toxicidade significativa da medula óssea inclui a trombocitopenia grave ou a aplasia total. Nestas condições, a D-penicilamina deve ser imediatamente descontinuada. As reações tardias incluem nefrotoxicidade, normalmente anunciada pela proteinúria ou pelo aparecimento de outros elementos celulares na urina, para a qual a descontinuação da D-penicilamina deve ser imediata. Outras reações tardias incluem um síndrome semelhante ao Lupus caracterizado por hematúria, proteinúria e anticorpos antinucleares positivos, e com doses mais elevadas de D-penicilamina já não utilizadas habitualmente no tratamento da doença de Wilson, o síndrome de Goodpasture. As toxicidades dermatológicas relatadas incluem alterações cutâneas progéricas e elastose perfurante serpiginosa [99], lesões penfigoides ou penfigo, líquen plano e estomatite aftosa. Os efeitos secundários muito tardios são raros e incluem a nefrotoxicidade, a miastenia gravis [100], a polimiosite, a perda de paladar, a depressão da imunoglobulina A e a retinite serosa. A siderose hepática foi relatada em doentes tratados com níveis reduzidos de ceruloplasmina sérica e cobre não ligado à ceruloplasmina [101]. O uso excessivo de penicilamina pode provocar anemia sideroblástica e hemossiderose reversíveis.

### Trientina

A trientina (dicloridrato trietileno de tetramina ou 2,2,2-tetramina) foi introduzida em 1969 como uma alternativa à D-penicilamina. A trientina é um quelante com uma estrutura em forma de poliamina quimicamente distinta da D-penicilamina. Não contém grupos sulfidrílicos e o cobre é quelado através da formação de um complexo estável com os quatro azotos constituintes num anel planar. Tal como a D-penicilamina, a trientina promove a excreção do cobre na urina.

Existem poucos dados acerca da farmacocinética da trientina. É pouco absorvida pelo trato gastrointestinal e aquilo que é absorvido é metabolizado e inativado [102]. Cerca de 1% da trientina administrada e cerca de 8% dos metabolitos de trientina biotransformados, a acetiltrientina, são detetados na urina. A quantidade de cobre na urina, zinco e ferro aumentam em paralelo com a quantidade de trientina excretada na urina [103]. A potência da trientina como quelante do cobre em comparação com a D-penicilamina é controversa [95,104]. A trientina e a D-penicilamina podem mobilizar diferentes depósitos de cobre no corpo [105].

As doses típicas de trientina são de 900–2700 mg/dia em duas ou três tomas, com 900–1500 mg/dia usadas na terapêutica de manutenção. Nas crianças, a dose em função do peso não está estabelecida, mas é geralmente usada uma dose de 20 mg/kg/dia arredondada aos 250 mg mais próximos, administrada em duas ou três tomas. A trientina deve ser administrada 1 hora antes das refeições ou 3 horas após as mesmas. Uma toma mais próxima das refeições é aceitável se assegurar a adesão ao tratamento. Os comprimidos de trientina podem não ser estáveis durante longos períodos de tempo a uma temperatura ambiente alta, o que é um problema para doentes que viajam até climas quentes.

A trientina é um tratamento eficaz para a doença de Wilson [106,107]. A trientina, embora esteja a ser desenvolvida para ser usada em doentes intolerantes à penicilamina, também demonstrou ser uma terapêutica inicial eficaz, inclusive em doentes com doença hepática descompensada no início da mesma [108,109]. Em geral, os efeitos adversos decorrentes da D-penicilamina resolvem-se quando são substituídos por trientina e não recorrem novamente durante um tratamento prolongado com trientina.

Foi relatado o agravamento neurológico após o início do tratamento com trientina, mas aparenta ser menos comum que com a D-penicilamina. A trientina também é quelante do ferro e a coadministração de trientina e ferro deve ser evitada, uma vez que o complexo com ferro é tóxico. A anemia sideroblástica reversível pode ser uma consequência de um tratamento excessivo e provocar uma deficiência de cobre. Também foram relatadas reações de tipo lúpus em alguns doentes com doença de Wilson tratados com trientina. Contudo, estes doentes foram quase todos tratados previamente de forma uniforme com D-penicilamina e, como tal, a frequência desta reação quando a trientina é *de novo* usada é desconhecida.

A adequação do tratamento é monitorizada pela medição da excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas (após 2 dias de interrupção da terapêutica) e através da medição do cobre não ligado à ceruloplasmina.

### Tetratiomolibdato de amónio

O tetratiomolibdato de amónio (TM) é um agente de remoção do cobre muito potente. O TM forma um complexo com o cobre no trato intestinal e impede a sua absorção e, na circulação, torna o cobre indisponível para entrar nas células [110]. O TM pode diretamente e reversivelmente inibir a entrega de cobre às metaloenzimas secretadas [111]. Em doses baixas, o TM remove o cobre da metaloteioneína mas, em doses mais elevadas, forma um complexo de cobre insolúvel que é depositado no fígado [112]. O TM é por enquanto um tratamento experimental e ainda não está disponível no mercado. Até ao momento, a experiência clínica com este medicamento é limitada. O controlo do cobre livre foi estudado prospetivamente como um tratamento anti-cobre inicial em doentes com doença de Wilson com sinais neurológicos [113]. Os doentes foram tratados durante 8 semanas com TM e, daí em diante, com zinco. Num ensaio clínico aberto, o TM demonstrou um controlo muito apertado dos níveis de cobre livre. Num ensaio duplamente cego, o TM controlou significativamente melhor os níveis de cobre livre do que a trientina. Na trientina, quatro doentes agravaram neurologicamente e isto esteve associado a picos significativos nos níveis de cobre livre no soro. Outros dados indicam ainda a sua utilidade, pois pode ser menos provável que provoque a deterioração neurológica [114,115]. Os efeitos adversos potenciais incluem a supressão da medula óssea [116], a hepatotoxicidade [117] e uma remoção do cobre demasiado agressiva, provocando disfunções neurológicas. O TM também tem efeitos anti-angiogénicos devido ao seu efeito eficaz de remoção do cobre [118].

**Zinco**

O zinco foi primeiramente utilizado para tratar a doença de Wilson por Schouwink na Holanda, no início dos anos 60 [119]. O seu mecanismo de ação é diferente do da penicilamina e trientina: o zinco interfere com a absorção de cobre por parte do trato gastrointestinal. O zinco induz metalotioneína nos enterócitos, uma proteína rica em cisteína que é um quelante endógeno de metais. A metalotioneína tem uma maior afinidade pelo cobre do que pelo zinco e, assim, liga-se preferencialmente ao cobre presente no enterócito e inibe a sua entrada na circulação portal. Uma vez ligado, o cobre não é absorvido, e é perdido nas fezes, uma vez que os enterócitos são eliminados durante o processo de regeneração [120]. Devido ao cobre entrar também no trato gastrointestinal pela saliva e pelas secreções gástricas, o tratamento com zinco pode gerar um balanço negativo para o cobre e, por conseguinte, remover o cobre armazenado [121,122]. O zinco pode ainda atuar através da indução de níveis de metalotioneína hepatocelular [123,124], ligando-se assim ao cobre em excesso tóxico para impedir lesões hepatocelulares.

São usados diferentes sais de zinco (sulfato, acetato, gluconato). A dose recomendada é de 150 mg de zinco elementar por dia (para crianças <50 kg de peso corporal, 75 mg) administrada em três tomas, 30 minutos antes das refeições. Não se sabe ainda se o tratamento combinado com quelantes tem vantagens. Contudo, para evitar a neutralização da eficácia do zinco por quelantes, devem ser consideradas diferentes tempos de toma. A adesão às três tomas diárias pode ser problemática. Os sais de zinco usados não fazem diferença em relação à eficácia mas podem afetar a tolerabilidade. Tomar

medicação de zinco com alimentos interfere na absorção do mesmo [125]. A adequação do tratamento com zinco é avaliada por melhorias clínicas e bioquímicas e medindo a excreção urinária de cobre ao longo de 24 horas, a qual deve ser inferior a 1,6 µmol por 24 h no tratamento estável. Além disso, o cobre não ligado à ceruloplasmina deve diminuir com um tratamento eficaz. A excreção urinária do zinco pode ser medida com alguma regularidade, para verificar a adesão ao tratamento.

O zinco tem poucos efeitos secundários. A irritação gástrica é um problema comum e pode depender dos sais utilizados. O zinco pode ter efeitos imunossupressores e reduzir a quimiotaxia dos leucócitos. Podem ocorrer elevações da lipase e/ou amilase séricas sem evidência clínica ou radiológica de pancreatite. A deterioração neurológica é pouco comum com zinco [96,126,127]. Não se sabe ainda se doses elevadas de zinco são seguras para doentes com uma disfunção renal.

A maior parte das informações sobre o zinco são provenientes de estudos não controlados com doses dos 75 aos 250 mg por dia [87,128]. O zinco é provavelmente menos eficaz do que os agentes quelantes no tratamento da doença de Wilson estabelecida, embora os dados sejam limitados e não sejam controlados [129]. Embora o zinco seja reservado atualmente para o tratamento de manutenção, também foi usado como tratamento de primeira linha, mais comumente em doentes assintomáticos ou pré-sintomáticos. Aparenta ser tão eficaz como a D-penicilamina, mas é mais bem tolerado [96]. Os relatos de grandes estudos em adultos com doença de Wilson indicam uma boa eficácia [122]. Enquanto a monoterapia com zinco aparenta ser eficaz e segura na doença de

**Recomendação 2**

- O tratamento inicial para doentes sintomáticos com doença de Wilson devem incluir um agente quelante (D-penicilamina ou trientina). A trientina pode ser mais bem tolerada  
**GRAU II-1, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- O zinco pode ter uma função como tratamento de primeira linha em doentes neurológicos  
**GRADE II-2, C, 2**  
**Classe II, nível C AASLD**
- O tratamento de doentes pré-sintomáticos ou com doença neurológica no tratamento de manutenção pode ser realizado com um agente quelante ou com zinco  
**GRAU II-1, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- O tratamento é vitalício e não deve ser descontinuado, exceto se for realizado o transplante hepático  
**GRAU II-1, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- Se for usado zinco, é necessária uma monitorização cuidadosa das aminotransferases, com a substituição para quelantes se estes parâmetros laboratoriais estiverem a aumentar  
**GRAU C1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- Os doentes devem evitar ingerir alimentos e água com elevadas concentrações de cobre, especialmente durante o primeiro ano de tratamento  
**GRAU II-3, B, 2**  
**Classe I, nível C AASLD**
- Os doentes com insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson devem ser tratados com transplante hepático quando a pontuação de King's revista for de 11 ou superior  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD [41]**
- Os doentes com cirrose descompensada que não respondam ao tratamento com quelantes devem ser avaliados de imediato para transplante hepático  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível B AASLD**
- O tratamento para a doença de Wilson deve ser continuado durante a gravidez, mas é aconselhável uma redução da dose de D-penicilamina e trientina  
**GRAU II-3, B, 1**  
**Classe I, nível C AASLD**
- Para uma monitorização de rotina, o cobre sérico e a ceruloplasmina, as enzimas hepáticas e o INR, os parâmetros funcionais, o hemograma completo, a análise à urina, bem como o exames físico e neurológico devem ser realizados com regularidade, pelo menos duas vezes por ano  
**GRAU II-2, B, 1**  
**Classe I, nível C AASLD**
- A excreção de cobre na urina ao longo de 24 horas sob medicação e após 2 dias de cessação do tratamento deve ser medida pelo menos anualmente. O cobre não ligado à ceruloplasmina sérica estimado pode ser outro parâmetro útil para o controlo do tratamento  
**GRAU II-3, B, 1**  
**Classe I, nível C AASLD**

## Recomendações de Orientação Clínica

Wilson neurológica e em irmãos assintomáticos, é necessário grande cautela nos doentes com doença de Wilson hepática. A deterioração hepática tem sido ocasionalmente observada quando o zinco é iniciado e foi fatal num caso [127]. Por conseguinte, a monoterapia exclusiva com zinco na doença de Wilson hepática sintomática é controversa. Na Holanda, 17 doentes sintomáticos com doença de Wilson foram previamente tratados com zinco em monoterapia com um seguimento médio de 14 anos [128]. O resultado do tratamento exclusivamente à base de zinco é geralmente bom, em casos de doença neurológica. Um resultado menos satisfatório na doença hepática pode estar relacionado com uma remoção do cobre menos eficaz. Dois doentes com doença de Wilson hepática progrediram para um estado descompensado e dois doentes com doença de Wilson neurológica desenvolveram doença hepática sintomática. Os desfechos de longo prazo de diferentes tratamentos em 288 doentes alemães e austríacos com doença de Wilson indicaram que, na maioria dos doentes, o tratamento com agentes quelantes ou sais de zinco foi eficaz. Contudo, os agentes quelantes foram mais eficazes na prevenção da deterioração hepática [129]. Pelo contrário, num coorte polaca de 164 doentes, não foram verificadas diferenças na sobrevida dos doentes que iniciaram o tratamento com sulfato de zinco ou D-penicilamina [38]. As Recomendações guias de orientação atuais recomendam que todos os doentes sintomáticos com doença de Wilson recebam um agente quelante (penicilamina ou trientina) [130,131]. O zinco pode desempenhar um papel como tratamento de primeira linha em doentes neurológicos.

### Outros tratamentos

Os antioxidantes, principalmente a vitamina E, podem desempenhar um papel de tratamento adjuvante [132,133]. Verificou-se que os níveis séricos e hepáticos de vitamina E eram baixos na doença de Wilson [134–136]. A melhoria dos sintomas quando a vitamina E foi acrescentada ao regime de tratamento foi ocasionalmente relatada, mas não foram realizados estudos rigorosos. Um estudo sugere a inexistência de correlação entre a deficiência em antioxidantes e os sintomas clínicos [135].

Dados em animais sugerem que a amitriptilina desempenha um papel na insuficiência hepática iminente devido à doença de Wilson, pois reduz a apoptose induzida pelo cobre das células hepáticas e, por conseguinte, aumenta a sobrevida de ratos com deficiência de ATP7B [137]. Contudo, não existem por enquanto dados em seres humanos.

In vitro, o tratamento com os acompanhantes farmacológicos 4-fenilbutirato e curcumina repuseram parcialmente a expressão da proteína da maior partes dos mutantes de ATP7B e pode possibilitar a utilização de estratégias de tratamento inovadoras na doença de Wilson, melhorando diretamente a expressão da proteína do mutante de ATP7B com atividade de exportação de cobre residual [138]. Além disso, a curcumina é um antioxidante ideal consumindo eficazmente as espécies reativas de oxigénio [139] e podendo atuar como um agente quelante do cobre [140]. Dados clínicos em doentes com a doença de Wilson ainda não estão disponíveis.

### Transplante hepático

O transplante é frequentemente necessário para doentes que apresentam insuficiência hepática aguda ou cirrose descompensada devido à doença de Wilson [141]. Uma vez que o defeito bioquímico reside principalmente no fígado, o transplante hepático ortotópico (OLT) corrige o problema subjacente. Schilsky analisou 55 transplantes realizados em 33 doentes com cirrose descompensada e 21 doentes com insuficiência hepática aguda devido à doença de Wilson nos Estados Unidos e na Europa [142]. A sobrevida média após o OLT era de 2,5 anos, a sobrevida mais longa após o OLT foi de 20 anos. A sobrevida a 1 ano foi de 79%. Ocorreram complicações não fatais em cinco doentes. Foram realizados cinquenta e um OLT em 39 doentes (16 pediátricos, 23 adultos) na Universidade de Pittsburgh [143]. A taxa de sobrevida do enxerto primário foi de 73% e a sobrevida do doente foi de 79%. A sobrevida foi melhor para aqueles com doença hepática avançada (90%) do que para aqueles com insuficiência hepática aguda (73%). O transplante de dador vivo (sendo o dador obrigatoriamente um heterozigoto) é viável e confere excelentes resultados [144–146]. A sobrevida é satisfatória e aparenta ser melhor para doentes que foram submetidos a um transplante devido a doença hepática avançada crónica do que para aqueles com insuficiência hepática aguda. A sobrevida global está a melhorar; a maior sobrevida registada é de 20 anos. A observação limitada sugere que os sintomas neurológicos de doentes que precisam de OLT podem melhorar como resultado do mesmo [145]. Contudo, foi também observada a deterioração neurológica grave após OLT bem-sucedidos [147].

### Gravidez

O tratamento bem-sucedido significa que as mulheres com doença de Wilson podem engravidar [148,149]. O aconselhamento deve indicar que a probabilidade de obter um homozigoto em crianças é de 0,5%. Justifica-se a realização de uma análise ao haplótipo do parceiro. O estado de cobre do doente deve ser otimizado antes da gravidez. Embora exista alguma preocupação em relação à teratogenicidade da D-penicilamina, os riscos de abandono do tratamento compensam os da sua continuação. Uma compilação publicada de séries de casos sobre 161 gravidezes em 83 mulheres com doença de Wilson (uma das quais efetuou com sucesso uma fecundação *in vitro*) tratadas com D-penicilamina durante a gravidez mostraram 122 nascimentos com 119 recém-nascidos normais [150].

Uma taxa de aborto alta só foi observada num estudo realizado na Índia [151].

Isto também é verdade para tratamentos com trientina [152] ou zinco [149], sendo atualmente especulativo e não baseado em dados, se a dose de um quelante deve ser diminuída ou não. O maior risco de teratogenicidade fetal ocorre no primeiro trimestre. Por conseguinte, foi recomendada redução da D-penicilamina durante o primeiro trimestre com uma monitorização contínua a uma dose baixa para todos os trimestres [130]. Outros recomendaram a redução de quelantes para a dose mínima, ou seja, 300–600 mg/dia no último trimestre, para evitar um fornecimento de cobre insuficiente ao

feto ou a cicatrização insuficiente das feridas após a cesariana ou episiotomia [148]. A amamentação durante o tratamento com quelantes não é recomendada, embora existam relatos em que as crianças amamentaram de mãos a tomar D-penicilamina e não tiveram problemas [153].

Embora a contraceção seja uma questão importante, não foram realizados estudos detalhados até à data. Os estrogénios podem interferir na excreção biliar de cobre. Em mulheres saudáveis a tomarem contraceptivos, o cobre sérico e a excreção urinária de cobre aumentaram [154], tendo sido observados inclusivamente depósitos de cobre na córnea [155]. Muitos dispositivos intrauterinos contêm cobre. Por conseguinte, só podem ser prescritos com segurança espermicidas, contraceptivos de barreira e preparações apenas à base de progesterona [156].

**Conflitos de interesse**

Os colaboradores destas recomendações de Orientação Clínica indicaram que não têm relações com entidades comerciais cuja associação a este artigo possa ser subentendida.

**Referências**

[1] Scheinberg IH, Sternlieb I. Wilson's disease. In: Smith Jr LH, editor. Major problems in internal medicine, vol. 23. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1984. p. 25-35.

[2] Gitlin JD. Wilson disease. *Gastroenterology* 2003;125:1868-1877.

[3] Tao TY, Gitlin JD. Hepatic copper metabolism: insights from genetic disease. *Hepatology* 2003;37:1241-1247.

[4] Lutsenko S, Petris MJ. Function and regulation of the mammalian copper-transporting ATPases: insights from biochemical and cell biological approaches. *J Membr Biol* 2003;191:1-12.

[5] Ferenci P, Czlonkowska A, Merle U, Szalay F, Gromadzka G, Yurdaydin C, et al. Late onset Wilson disease. *Gastroenterology* 2007;132:1294-1298.

[6] Bachmann H, Lössner J, Kühn HJ, Siegemund R. Occurrence, genetics and epidemiology of Wilson's disease in East Germany. In: Czlonkowska A, van der Hamer CJA, editors. Proc. 5th. Intern. Symposium on Wilson's disease. Technical Univ. Delft 1991. p. 121-128.

[7] Reilly M, Daly L, Hutchinson M. An epidemiological study of Wilson's disease in the Republic of Ireland. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993;56:298-300.

[8] Wilson disease mutation database. Available from: <http://www.wilson-disease.med.ualberta.ca/database.asp>.

[9] Wilson DC, Phillips MJ, Cox DW, Roberts EA. Severe hepatic Wilson's disease in preschool-aged children. *J Pediatr* 2000;137:719-722.

[10] Ala A, Borjigin J, Rochwarger A, Schilsky M. Wilson disease in septuagenarian siblings: raising the bar for diagnosis. *Hepatology* 2005;41:668-670.

[11] Czlonkowska A, Rodo M, Gromadzka G. Late onset Wilson's disease: therapeutic implications. *Mov Disord* 2008;23:897-899.

[12] Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl CH, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology* 1997;113:212-218.

[13] Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, Smith AL, Wall AJ, Sewell RB. Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. *Gut* 2000;46: 415-419.

[14] Sanchez-Albisua I, Garde T, Hierro L, Camarena C, Frauca E, de la Vega A, et al. A high index of suspicion: the key to an early diagnosis of Wilson's disease in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:186-190.

[15] Cairns JE, Williams HP, Walshe JM. "Sunflower cataract" in Wilson's disease. *Br Med J* 1969;3:95-96.

[16] Walshe JM, Dixon AK. Dangers of non-compliance in Wilson's disease. *Lancet* 1986;12:845-847.

[17] Eisenbach C, Sieg O, Stremmel W, Encke J, Merle U. Diagnostic criteria for acute liver failure due to Wilson disease. *World J Gastroenterol* 2007;13:1711-1714.

[18] Walshe JM. The liver in Wilson's disease. In: Schiff L, Schiff ER, editors. *Diseases of the Liver*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott; 1987. p. 1037-1050. [19] Saito T. Presenting symptoms and natural history of Wilson disease. *Eur J Pediatr* 1987;146:261-265.

[20] Czlonkowska A, Gromadzka G, Buttner J, Chabik G. Clinical features of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count syndrome in undiagnosed Wilson disease: report of two cases. *Arch Gynecol Obstet* 2009;281:129-134.

[21] Czlonkowska A. A study of haemolysis in Wilson's disease. *J Neurol Sci* 1972;16:303-314.

[22] Brewer GJ. Neurologically presenting Wilson's Disease. *CNS Drugs* 2005;19:185-192.

[23] LeWitt PA, Czlonkowska A. Wilson's disease. In: Lisak RP, Truong DD, Carroll WM, Bhidayasiri R, editors. *International neurology, a clinical approach*. Oxford UK: Wiley-Blackwell; 2009. p. 644-647.

[24] Svetel M, Potrebic A, Pekmezovic T, Tomic A, Kresojevic N, Jescic R, et al. Neuropsychiatric aspects of treated Wilson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2009;15:772-775.

[25] Seniów J, Mroziak B, Czlonkowska A, Jedryka-Goral A. Self-rated emotional functioning of patients with neurological or asymptomatic form of Wilson's disease. *Clin Neuropsychol* 2004;17:367-373.

[26] Seniów J, Ba'k T, Gajda J, Poniatowska R, Czlonkowska A. Cognitive functioning in neurologically symptomatic and asymptomatic forms of Wilson's disease. *Mov Disord* 2002;17:1077-1108.

[27] Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical Presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson disease - a cohort study. *Gut* 2007;56:115-120.

[28] Ferenci P, Steindl-Munda P, Vogel W, Jessner W, Gschwantler M, Stauber R, et al. Diagnostic value of quantitative hepatic copper determination in patients with Wilson disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:811-818.

[29] Azizi E, Eshel G, Aladjem M. Hypercalciuria and nephrolithiasis as a presenting sign in Wilson disease. *Eur J Pediatr* 1989;148:548-549.

[30] Nakada SY, Brown MR, Rabinowitz R. Wilson's disease presenting as symptomatic urolithiasis: a case report and review of the literature. *J Urol* 1994;152:978-979.

[31] Factor SM, Cho S, Sternlieb I, Scheinberg IH, Goldfischer S. The cardiomyopathy of Wilson's disease. Myocardial alterations in nine cases. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 1982;397:301-311.

[32] Chu CC, Huang CC, Chu NS. Recurrent hypokalemic muscle weakness as an initial manifestation of Wilson's disease. *Nephron* 1996;73:477-479.

[33] Golding DN, Walshe JM. Arthropathy of Wilson's disease. Study of clinical and radiological features in 32 patients. *Ann Rheum Dis* 1977;36:99-111. [34] Carpenter TO, Carnes Jr DL, Anast CS. Hypoparathyroidism in Wilson's disease. *N Engl J Med* 1983;309:873-877.

[35] Weizman Z, Picard E, Barki Y, Moses S. Wilson's disease associated with pancreatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:931-933.

[36] Klee JG. Undiagnosed Wilson's disease as cause of unexplained miscarriage. *Lancet* 1979;2:423.

[37] Tarnacka B, Rodo M, Cichy S, Czlonkowska A. Procreation ability in Wilson's disease. *Acta Neurol Scand* 2000;101:395-398.

[38] Czlonkowska A, Tarnacka B, Litwin T, Gajda J, Rodo M. Wilson's disease - cause of mortality in 164 patients during 1992-2003 observation period. *J Neurol* 2005;252:698-703.

[39] Stremmel W, Meyerrose KW, Niederau C, Hefter H, Kreuzpaintner G, Strohmeyer G. Wilson's disease: clinical presentation, treatment, and survival. *Ann Intern Med* 1991;115:720-726.

[40] Nazer H, Ede RJ, Mowat AP, Williams R. Wilson's disease: clinical presentation and use of prognostic index. *Gut* 1986;27:1377-1381.

[41] Dhawan A, Taylor RM, Cheeseman P, De Silva P, Katsiyiannakis L, Mieli-Vergani G. Wilson's disease in children: 37-year experience and revised King's score for liver transplantation. *Liver Transplant*

2005;11:441–448.

- [42] Arnon R, Annunziato R, Schilsky M, Miloh T, Willis, Sturdevant M, *et al.* Liver transplantation for children with Wilson disease: comparison of outcomes between children and adults. *Clin Transplant* 2011;25: E52–E60.
- [43] Cauza E, Maier-Dobersberger T, Ferenci P. Plasma ceruloplasmin as screening test for Wilson's disease. *J Hepatol* 1997;27:358–362.
- [44] Ferenci P, Caca K, Loudianos G, Mieli-Vergani G, Tanner S, Sternlieb I, *et al.* Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int* 2003;23:139–142.
- [45] Nicastro E, Ranucci G, Vajro P, Vegnente A, Iorio R. Re-evaluation of the diagnostic criteria for Wilson disease in children with mild liver disease. *Hepatology* 2010;52:1948–1956.
- [46] Frieden E, Hsieh HS. Ceruloplasmin: the copper transport protein with essential oxidase activity. *Adv Enzymol* 1976;44:187–236.
- [47] Gromadzka G, Chabik G, Mendel T, Wierzychowska A, Rudnicka M, Czlonkowska A. Middle-aged heterozygous carriers of Wilson's disease do not present with significant phenotypic deviations related to copper metabolism. *J Genet* 2010;89:463–467.
- [48] Harris ZL, Klomp LW, Gitlin JD. Aceruloplasminemia: an inherited neuro-degenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr* 1998;67:S972–S977.
- [49] Perman JA, Werlin SL, Grand RJ, Watkins JB. Laboratory measures of copper metabolism in the differentiation of chronic active hepatitis and Wilson disease in children. *J Pediatr* 1979;94:564–568.
- [50] Korman JD, Volenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires Jr RH, *et al.* Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology* 2008;48:1167–1174.
- [51] Merle U, Eisenbach C, Weiss KH, Tuma S, Stremmel W. Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease. *J Hepatol* 2009;51:925–930.
- [52] Danks DM. Disorders of copper transport. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 4125–4158.
- [53] Roberts EA, Cox DW. Wilson disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1998;12:237–256.
- [54] Gross Jr JB, Ludwig J, Wiesner RH, McCall JT, LaRusso NF. Abnormalities in tests of copper metabolism in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1985;89:272–278.
- [55] Giacchino R, Marazzi MG, Barabino A, Fasce L, Ciravegna B, Famularo L, *et al.* Syndromic variability of Wilson's disease in children. Clinical study of 44 cases. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997;29:155–161.
- [56] Tu JB, Blackwell RQ. Studies on levels of penicillamine-induced cupriuresis in heterozygotes of Wilson's disease. *Metabolism* 1967;16:507–513.
- [57] Frommer DJ. Urinary copper excretion and hepatic copper concentrations in liver disease. *Digestion* 1981;21:169–178.
- [58] Martins da Costa C, Baldwin D, Portmann B, Lolin Y, Mowat AP, Mieli-Vergani G. Value of urinary copper excretion after penicillamine challenge in the diagnosis of Wilson's disease. *Hepatology* 1992;15: 609–615.
- [59] Muller T, Koppikar S, Taylor RM, Carragher F, Schlenck B, Heinz-Erian P, *et al.* Re-evaluation of the penicillamine challenge test in the diagnosis of Wilson's disease in children. *J Hepatol* 2007;47:270–276.
- [60] Song YM, Chen MD. A single determination of liver copper concentration may misdiagnose Wilson's disease. *Clin Biochem* 2000;33: 589–590.
- [61] Tanner MS. Indian childhood cirrhosis and Tyrolean childhood cirrhosis. Disorders of a copper transport gene? *Adv Exp Med Biol* 1999;448: 127–137.
- [62] Ludwig J, Moyer TP, Rakela J. The liver biopsy diagnosis of Wilson's disease. *Methods in pathology*. *Am J Clin Pathol* 1994;102:443–446.
- [63] Strohmeyer FW, Ishak KG. Histology of the liver in Wilson's disease: a study of 34 cases. *Am J Clin Pathol* 1980;73:12–24.
- [64] Strand S, Hofmann WJ, Grambihler A, Hug H, Volkmann M, Otto G, *et al.* Hepatic failure and liver cell damage in acute Wilson's disease involve CD95 (APO-1/Fas) mediated apoptosis. *Nat Med* 1998;4:588–593.
- [65] Goldfischer S, Sternlieb I. Changes in the distribution of hepatic copper in relation to the progression of Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Am J Pathol* 1968;53:883–901.
- [66] Sternlieb I. Mitochondrial and fatty changes in hepatocytes of patients with Wilson's disease. *Gastroenterology* 1968;55:354–367.
- [67] Leinweber B, Moller JC, Scherag A, Reuner U, Gunther P, Lang CJG, *et al.* Evaluation of the Unified Wilson's Disease Rating Scale (UWDRS) in German patients with treated Wilson's disease. *Mov Disord* 2008;23:54–62.
- [68] Czlonkowska A, Tarnacka B, Moller JC, Leinweber B, Bandmann O, Woimant F, *et al.* Unified Wilson's Disease Rating Scale – a proposal for the neurological scoring of Wilson's disease patients. *Neurol Neurochir Pol* 2007;41:1–12.
- [69] van Wassenaeer-van Hall HN, van den Heuvel AG, Algra A, Hoogenraad TU, Mali WP. Wilson disease: findings at MR imaging and CT of the brain with clinical correlation. *Radiology* 1996;198:531–536.
- [70] Tarnacka B, Szeszkowski W, Golebiowski M, Czlonkowska A. MR Spectroscopy in monitoring the treatment of Wilson's disease patients. *Mov Disord* 2008;23:1560–1566.
- [71] Jacobs DA, Markowitz CE, Liebeskind DS, Galetta SL. The “double panda sign” in Wilson's disease. *Neurology* 2003;61:969.
- [72] Prashanth LK, Sinha S, Taly AB, Vasudev MK. Do MRI features distinguish Wilson's disease from other early onset extrapyramidal disorders? An analysis of 100 cases. *Mov Disord* 2010;25:672–678.
- [73] Piga M, Murru A, Satta L, Serra A, Sias A, Loi G, *et al.* SPECT in the diagnosis of early neurological involvement in Wilson's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:716–724.
- [74] Walter U, Królikowski K, Tarnacka B, Benecke R, Czlonkowska A, Dressler D. Sonographic detection of basal ganglia lesions in asymptomatic and symptomatic Wilson disease. *Neurology* 2005;64:1726–1732.
- [75] Walter U. Transcranial sonography in brain disorders with trace metal accumulation. *Int Rev Neurobiol* 2010;90:166–178.
- [76] Grimm G, Oder W, Prayer L, Ferenci P, Madl CH. Prospective follow-up study in Wilson's disease. *Lancet* 1990;336:963–964.
- [77] Grimm G, Madl CH, Katzenschlager R, Oder W, Ferenci P, Gangl A. Detailed evaluation of brain dysfunction in patients with Wilson's disease. *EEG Clin Neurophysiol* 1992;82:119–124.
- [78] Ferenci P. Wilson's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:726–733.
- [79] Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease – impact on genetic testing. *Hum Genet* 2006;120:151–159.
- [80] Loudianos G, Dessi V, Lovicu M, Angius A, Figus AL, Lilliu F, *et al.* Molecular characterization of Wilson disease in the Sardinian population – evidence of a founder effect. *Hum Mutat* 1999;14:294–303.
- [81] Loudianos G, Dessi V, Lovicu M, Angius A, Altuntas B, Giacchino R, *et al.* Mutation analysis in patients of Mediterranean descent with Wilson disease: identification of 19 novel mutations. *J Med Genet* 1999;36:833–836.
- [82] Kim EK, Yoo OJ, Song KY, Yoo HW, Choi SY, Cho SW, *et al.* Identification of three novel mutations and a high frequency of the Arg778Leu mutation in Korean patients with Wilson disease. *Hum Mutat* 1998;11:275–278.
- [83] Nanji MS, Nguyen VT, Kawasoe JH, Inui K, Endo F, Nakajima T, *et al.* Haplotype and mutation analysis in Japanese patients with Wilson disease. *Am J Hum Genet* 1997;60:1423–1429.
- [84] Shimizu N, Nakazono H, Takeshita Y, Ikeda C, Fujii H, Watanabe A, *et al.* Molecular analysis and diagnosis in Japanese patients with Wilson's disease. *Pediatr Int* 1999;41:409–413.
- [85] Berman DH, Leventhal RI, Gavalier JS, Cadoff EM, Van Thiel DH. Clinical differentiation of acute Wilsonian hepatitis from other causes of hepatic failure. *Gastroenterology* 1991;100:1129–1134.
- [86] Ferenci P. Diagnosis and current therapy of Wilson's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:157–165.
- [87] Wiggelinkhuizen M, Tilanus ME, Bollen CW, Houwen RH. Systematic review: clinical efficacy of chelator agents and zinc in the initial treatment of Wilson disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29:947–958.

- [88] Scheinberg IH, Sternlieb I, Schilsky M, Stockert RJ. Penicillamine may detoxify copper in Wilson's disease. *Lancet* 1987;2:95.
- [89] Siegel RC. Collagen cross-linking effect of D-penicillamine on cross-linking *in vitro*. *J Biol Chem* 1977;252:254–259.
- [90] Lipsky PE, Ziff M. The effect of D-penicillamine on mitogen-induced human lymphocyte proliferation: synergistic inhibition by D-penicillamine and copper salts. *J Immunol* 1978;120:1006–1013.
- [91] Czlonkowska A. The influence of prolonged treatment with D-penicillamine on the immune response in Wilson's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 1977;12:265–271.
- [92] Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V, Lee DY, Appelman H. Treatment of Wilson's disease with zinc. VI: initial treatment studies. *J Lab Clin Med* 1989;114:633–638.
- [93] Perrett D. The metabolism and pharmacology of D-penicillamine in man. *J Rheumatol Suppl* 1981;7:41–50.
- [94] Kukovetz WR, Beubler E, Kreuzig F, Moritz AJ, Nimberger G, Werner-Breitnecker L. Bioavailability and pharmacokinetics of D-penicillamine. *J Rheumatol* 1983;10:90–94.
- [95] Walshe JM. Copper chelation in patients with Wilson's disease. A comparison of penicillamine and triethylene tetramine dihydrochloride. *Q J Med* 1973;42:441–452.
- [96] Czlonkowska A, Gajda J, Rodo M. Effects of long-term treatment in Wilson's disease with D-penicillamine and zinc sulphate. *J Neurol* 1996;243:269–273.
- [97] Brewer GJ, Terry CA, Aisen AM, Hill GM. Worsening of neurologic syndrome in patients with Wilson's disease with initial penicillamine therapy. *Arch Neurol* 1987;44:490–493.
- [98] Medici V, Trevisan CP, D'Inca R, Barollo M, Zancan L, Fagioli S, *et al.* Diagnosis and management of Wilson's disease: results of a single center experience. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:936–941.
- [99] Becuwe C, Dalle S, Ronger-Savle S, Skowron F, Balme B, Kanitakis J, *et al.* Elastosis perforans serpiginosa associated with pseudo-pseudoxanthoma elasticum during treatment of Wilson's disease with penicillamine. *Dermatology* 2005;210:60–63.
- [100] Czlonkowska A. Myasthenia syndrome during penicillamine treatment. *Brit Med J* 1975;2:726–727.
- [101] Shiono Y, Wakusawa S, Hayashi H, Takikawa T, Yano M, Okada T, *et al.* Iron accumulation in the liver of male patients with Wilson disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:3147–3151.
- [102] Walshe JM. Treatment of Wilson's disease with trientine (triethylene tetramine) dihydrochloride. *Lancet* 1982;1:643–647.
- [103] Kodama H, Murata Y, Iitsuka T, Abe T. Metabolism of administered triethylene tetramine dihydrochloride in humans. *Life Sci* 1997;61:899–907.
- [104] Borthwick TR, Benson GD, Schugar HJ. Copper chelating agents. A comparison of cupruritic responses to various tetramines and D-penicillamine. *J Lab Clin Med* 1980;95:575–580.
- [105] Sarkar B, Sass-Kortsak A, Clarke R, Laurie SH, Wei P. A comparative study of *in vitro* and *in vivo* interaction of D-penicillamine and triethylene-tetramine with copper. *Proc R Soc Med* 1977;70:13–18.
- [106] Walshe JM. The management of Wilson's disease with triethylene tetramine 2HC1 (Trien 2HC1). *Prog Clin Biol Res* 1979;34:271–280.
- [107] 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;317:209–213.
- [108] Saito H, Watanabe K, Sahara M, Mochizuki R, Edo K, Ohya Y. Triethylene-tetramine (trien) therapy for Wilson's disease. *Tohoku J Exp Med* 1991;164:29–35.
- [109] Santos Silva EE, Sarles J, Buts JP, Sokal EM. Successful medical treatment of severely decompensated Wilson disease. *J Pediatr* 1996;128:285–287.
- [110] Brewer GJ, Dick RD, Johnson V, Wang Y, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kluin K, *et al.* Treatment of Wilson's disease with ammonium tetrathiomolybdate. I. Initial therapy in 17 neurologically affected patients. *Arch Neurol* 1994;51:545–554.
- [111] Alvarez HM, Xue Y, Robinson CD, Canalizo-Hernández MA, Marvin RG, Kelly RA, *et al.* Tetrathiomolybdate inhibits copper trafficking proteins through metal cluster formation. *Science* 2010;327:331–334.
- [112] Ogra Y, Suzuki KT. Targeting of tetrathiomolybdate on the copper accumulating in the liver of LEC rats. *J Inorg Biochem* 1998;70:49–55.
- [113] Brewer GJ, Askari F, Dick RB, Sitterly J, Fink JK, Carlson M, *et al.* Treatment of Wilson's disease with tetrathiomolybdate. V. Control of free copper by tetrathiomolybdate and a comparison with trientine. *Transl Res* 2009;154:70–77.
- [114] Brewer GJ, Hedera P, Kluin KJ, Carlson M, Askari F, Dick RB, *et al.* Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate. III: initial therapy in a total of 55 neurologically affected patients and follow-up with zinc therapy. *Arch Neurol* 2003;60:379–385.
- [115] Brewer GJ, Askari F, Lorincz MT, Carlson M, Schilsky M, Kluin KJ, *et al.* Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate. IV: comparison of tetrathiomolybdate and trientine in a double-blind study of treatment of the neurologic presentation of Wilson disease. *Arch Neurol* 2006;63:521–527.
- [116] Karunajeewa H, Wall A, Metz J, Grigg A. Cytopenias secondary to copper depletion complicating ammonium tetrathiomolybdate therapy for Wilson's disease. *Aust N Z J Med* 1998;28:215–216.
- [117] Medici V, Trevisan CP, Bigotto MA, D'Inca R, Martines D, Dal Pont E, *et al.* Adverse reaction after tetrathiomolybdate treatment for Wilson's disease: a case report. *Mov Disord* 2006;21:2030–2032.
- [118] Pan Q, Kleer CG, van Golen KL, Irani J, Bottema KM, Bias C, *et al.* Copper deficiency induced by tetrathiomolybdate suppresses tumor growth and angiogenesis. *Cancer Res* 2002;62:4854–4859.
- [119] Hoogenraad TU, Koevoet R, de Ruyter Korver EG. Oral zinc sulphate as long-term treatment in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Eur Neurol* 1979;18:205–211.
- [120] Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V, Young AB. Treatment of Wilson's disease. *Semin Neurol* 1987;7:209–220.
- [121] Brewer GJ, Hill GM, Prasad AS, Cossack ZT, Rabbani P. Oral zinc therapy for Wilson's disease. *Ann Intern Med* 1983;99:314–319.
- [122] Hoogenraad TU. Zinc treatment of Wilson's disease. *J Lab Clin Med* 1998;132:240–241.
- [123] Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985;65:238–309.
- [124] Schilsky M, Blank RR, Czaja MJ, Scheinberg IH, Stockert RJ, Sternlieb I. Hepatocellular copper toxicity and its attenuation by zinc. *J Clin Invest* 1989;84:1562–1568.
- [125] Pecoud A, Dozel F, Schelling JL. The effect of foodstuffs on the absorption of zinc sulfate. *Clin Pharmacol Ther* 1975;17:469–474.
- [126] Ferenci P. Zinc treatment of Wilson's disease. In: Kruse-Jarres JD, Schölmerich J, editors. *Zinc and diseases of the digestive tract*. Lancaster: Kluwer Academic Publishers;1997. p. 117–124.
- [127] Walshe JM, Munro NA. Zinc-induced deterioration in Wilson's disease aborted by treatment with penicillamine, dimercaprol, and a novel zero copper diet. *Arch Neurol* 1995;52:10–11.
- [128] Linn FH, Houwen RH, van Hattum J, van der Kleij S, van Erpecum KJ. Long-term exclusive zinc monotherapy in symptomatic Wilson disease: experience in 17 patients. *Hepatology* 2009;50:1442–1452.
- [129] Weiss KH, Gotthardt D, Klemm D, Merle U, Ferenci-Foerster D, Schaefer M, *et al.* Zinc monotherapy is not as effective as chelating agents in treatment of Wilson disease. *Gastroenterology* 2011;140:1189–1198.
- [130] Roberts EA, Schilsky ML. AASLD practice guidelines: a practice guideline on Wilson disease. *Hepatology* 2008;47:2094–2108.
- [131] Walshe JM, Yealland M. Chelation treatment of neurological Wilson's disease. *Q J Med* 1993;86:197–204.
- [132] Fryer MJ. Potential of vitamin E as an antioxidant adjunct in Wilson's disease. *Med Hypotheses* 2009;73:1029–1030.
- [133] Shen L, Ji HF. Adjunctive vitamin E treatment in Wilson disease, suggestions for future trials. *Hepatology* 2010;51:1864.
- [134] von Herbay A, de Groot H, Hegi U, Stremmel W, Strohmeier G, Sies H. Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease. *J Hepatol* 1994;20:41–46.
- [135] Sinha S, Christopher R, Arunodaya GR, Prashanth LK, Gopinath G, Swamy HS, *et al.* Is low serum tocopherol in Wilson's disease a significant symptom? *J Neurol Sci* 2005;228:121–123.

- [136] Sokol RJ, Twedt D, McKim Jr JM, Devereaux MW, Karrer FM, Kam I, *et al.* Oxidant injury to hepatic mitochondria in patients with Wilson's disease and Bedlington terriers with copper toxicosis. *Gastroenterology* 1994;107:1788–1798.
- [137] Lang PA, Schenck M, Nicolay JP, Becker JU, Kempe DS, Lupescu A, *et al.* Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide. *Nature Med* 2007;13:164–170.
- [138] van den Berghe PV, Stapelbroek JM, Krieger E, de Bie P, van de Graaf SF, de Groot RE, *et al.* Reduced expression of ATP7B affected by Wilson disease-causing mutations is rescued by pharmacological folding chaperones 4-phenylbutyrate and curcumin. *Hepatology* 2009;50:1783–1795.
- [139] Sreejayan, Rao MN. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol* 1997;49:105–107.
- [140] Barik A, Mishra B, Shen L, Mohan H, Kadam RM, Dutta S, *et al.* Evaluation of a new copper(II)-curcumin complex as superoxide dismutase mimic and its free radical reactions. *Free Radic Biol Med* 2005;39:811–822.
- [141] Khanna A, Jain A, Egtesad B, Rakela J. Liver transplantation for metabolic liver diseases. *Surg Clin North Am* 1999;79:153–162.
- [142] Schilsky ML, Scheinberg IH, Sternlieb I. Liver transplantation for Wilson's disease: indications and outcome. *Hepatology* 1994;19:583–587.
- [143] Bellary S, Hassanein T, Van Thiel DH. Liver transplantation for Wilson's disease. *J Hepatol* 1995;23:373–381.
- [144] Yoshitoshi EY, Takada Y, Oike F, Sakamoto S, Ogawa K, Kanazawa H, *et al.* Long-term outcomes for 32 cases of Wilson's disease after living-donor liver transplantation. *Transplantation* 2009;87:261–267.
- [145] Schumacher G, Platz KP, Mueller AR, Neuhaus R, Luck W, Langrehr JM, *et al.* Liver transplantation in neurologic Wilson's disease. *Transplant Proc* 2001;33:1518–1519.
- [146] Cheng F, Li GQ, Zhang F, Li XC, Sun BC, Kong LB, *et al.* Outcomes of living-related liver transplantation for Wilson's disease: a single-center experience in China. *Transplantation* 2009;87:751–757.
- [147] Litwin T, Gromadzka G, Czlonkowska A. Neurological presentation of Wilson's disease in a patient after liver transplantation. *Mov Disord* 2008;23:743–746.
- [148] Scheinberg IH, Sternlieb I. Pregnancy in penicillamine-treated patients with Wilson's disease. *N Engl J Med* 1975;293:1300–1302.
- [149] Brewer GJ, Johnson VD, Dick RD, Hedera P, Fink JK, Kluin KJ. Treatment of Wilson's disease with zinc XVII: treatment during pregnancy. *Hepatology* 2000;31:364–370.
- [150] Ferenci P. Wilson's Disease. In: Bacon B, O'Grady JG, DiBisceglie A, Lake JR, editors. *Comprehensive clinical hepatology*. [Chapter 24]. Maryland Heights, Miss. USA: Elsevier Mosby; 2005. p. 351–367.
- [151] Sinha S, Taly AB, Prashanth LK, Arunodaya GR, Swamy HS. Successful pregnancies and abortions in symptomatic and asymptomatic Wilson's disease. *J Neurol Sci* 2004;217:37–40.
- [152] Walshe JM. The management of pregnancy in Wilson's disease treated with trientine. *Q J Med* 1986;58:81–87.
- [153] Messner U, Günter HH, Niesert S. Wilson disease and pregnancy. Review of the literature and case report. *Z Geburtshilfe Neonatol* 1998;202:77–79.
- [154] Rubinfeld Y, Maor Y, Simon D, Modai D. A progressive rise in serum copper levels in women taking oral contraceptives: a potential hazard? *Fertil Steril* 1979;32:599–601.
- [155] Garmizo G, Frauens BJ. Corneal copper deposition secondary to oral contraceptives. *Optom Vis Sci* 2008;85:E802–E807.
- [156] Haimov-Kochman R, Ackerman Z, Anteby EY. The contraceptive choice for a Wilson's disease patient with chronic liver disease. *Contraception* 1997;56:241–244.
- [157] Walshe JM. Wilson's disease presenting with features of hepatic dysfunction: a clinical analysis of eighty-seven patients. *Q J Med* 1989;70:253–263.
- [158] Scott J, Gollan JL, Samourian S, Sherlock S. Wilson's disease, presenting as chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1978;74:645–651.
- [159] Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, *et al.* GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008;336:924–926.