

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



A Doença de Wilson em Pediatria

Tiago da Silva Brito Carneiro

Monografia orientada pela Professora Doutora Lúcia Maria Veloso Pinheiro, Professora Auxiliar e coorientada pela Professora Doutora Maria de Fátima dos Anjos Garcia Pereira Cabral, Professora Auxiliar.

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



A Doença de Wilson em Pediatria

Tiago da Silva Brito Carneiro

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Lúcia Maria Veloso
Pinheiro, Professora Auxiliar e coorientada pela Professora Doutora
Maria de Fátima dos Anjos Garcia Pereira Cabral, Professora Auxiliar.

2022

Agradecimentos

A elaboração desta monografia não teria sido possível sem o contributo de algumas pessoas.

Em primeiro lugar, gostaria de deixar o meu agradecimento à Professora Doutora Lúcia Pinheiro e à Professora Doutora Maria de Fátima Cabral pela disponibilidade, apoio e conhecimentos transmitidos que me ajudaram ao longo destes meses.

A todos os meus amigos, que são uma parte muito importante da minha vida e que são, sem dúvida, a família que escolhi. Obrigado por todo o apoio que sempre me deram, por estarem sempre tão presentes e por me alegrarem e motivarem nos piores momentos.

Aos meus pais e à minha irmã, obrigado pelo apoio incondicional e por todo o carinho que sempre me deram. Fizeram de mim a pessoa que sou hoje, deram tudo o que conseguiam para que eu fosse feliz e graças a vocês nunca me faltou nada.

Por fim, obrigado a todos por terem acreditado em mim.

Resumo

O cobre é um micronutriente essencial para o ser humano, nomeadamente como cofator de diversas enzimas envolvidas em processos fisiológicos importantes. No intestino a absorção do cobre é realizada por uma enzima, a ATP7A, localizada na membrana dos enterócitos, enquanto nos hepatócitos, a proteína ATP7B é responsável por incorporar o metal na ceruloplasmina, a fim de poder ser excretado na bÍlis; quando há uma inativação desta enzima, ocorre uma disrupção séria do metabolismo do cobre, que se manifesta clinicamente como Doença de Wilson. Esta doença é um distúrbio autossómico recessivo do metabolismo do cobre causado por uma mutação no cromossoma 13 que codifica para uma proteína ATP7B anormal. A perda da função desta ATPase é responsável por uma excreção biliar ineficaz de cobre que leva à acumulação patológica de cobre e lesão de órgãos secundários, bem como à incorporação defeituosa de cobre na ceruloplasmina, que é um marcador fenotípico na maioria dos indivíduos que sofrem desta doença. Existe uma ampla heterogeneidade de sintomas, mas as manifestações clÍnicas pediátricas predominantes são hepáticas e neurológicas. Uma das características mais comuns é o anel de Kayser-Fleischer, presente na maioria das crianças com sintomas neurológicos. O diagnóstico desta patologia requer uma combinação de testes laboratoriais e características clÍnicas ou a deteção de duas mutações específicas da ATP7B através da análise genética. Antes do desenvolvimento de terapêuticas farmacológicas, a doença de Wilson era inevitavelmente uma doença fatal, contudo, atualmente o prognóstico dos doentes pediátricos é bastante favorável. O tratamento farmacológico da Doença de Wilson fundamenta-se na indução de um balanço corporal negativo de cobre através do bloqueio da absorção ou do aumento da excreção; o tratamento inicial deve ser com uma terapia quelante de cobre: D-penicilamina ou trientina; a terapia de manutenção ou o tratamento de crianças assintomáticas deve ser preferencialmente sais de zinco, que são mais toleráveis do que os agentes quelantes. Inúmeros avanços estão a ser feitos no sentido de desenvolver novos compostos e terapêuticas inovadoras, sendo a terapia génica a que representa um futuro mais promissor.

Palavras-chave: Doença de Wilson; Cobre; ATP7B; Terapêutica; Pediatria

Abstract

Copper is an essential micronutrient for humans, namely as a cofactor of several enzymes involved in important physiological processes. In the intestine, copper absorption is carried out by an enzyme, ATP7A, located in the enterocyte membrane, while in hepatocytes, the ATP7B protein is responsible for incorporating the metal into ceruloplasmin, in order to be able to be excreted in the bile; when there is an inactivation of this enzyme, a serious disruption of copper metabolism occurs, which clinically manifests as Wilson disease. This disease is an autosomal recessive disorder of copper metabolism caused by a mutation on chromosome 13 that encodes an abnormal ATP7B protein expressed in the trans-Golgi network of hepatocytes. Loss of this ATPase function is responsible for ineffective biliary copper excretion by liver cells that leads to pathological copper accumulation and damage to secondary organs, as well as defective incorporation of copper into ceruloplasmin, which is a phenotypic marker in most individuals who suffer from this disease. There is a wide heterogeneity of symptoms, but the predominant pediatric clinical manifestations are hepatic and neurological. One of the most common features is the Kayser-Fleischer ring, present in most children with neurological symptoms. The diagnosis of this pathology requires a combination of laboratory tests and clinical features or the detection of two specific ATP7B mutations through genetic analysis. Before the development of pharmacological therapies, Wilson's disease was inevitably a fatal disease, however, nowadays the prognosis of pediatric patients is quite favorable. The pharmacological treatment of Wilson Disease is based on the induction of a negative body balance of copper by blocking absorption or increasing excretion; initial treatment should be with a copper chelation therapy: D-penicillamine or trientine; maintenance therapy or treatment of asymptomatic children should preferably be zinc salts, which are more tolerable than chelating agents. Numerous advances are being made towards the development of new compounds and innovative therapies, with gene therapy representing a more promising future.

Keywords: Wilson disease; Copper; ATP7B; Therapy; Pediatrics

Glossário de siglas, acrónimos e abreviaturas

AASLD – Associação Americana para o Estudo de Doenças Hepáticas (*American Association for the Study of Liver Diseases*)

AAV – Vírus Adeno-Associado (*Adeno Associated Virus*)

ADHD – Perturbação de Déficit de Atenção (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*)

ADI – Ingestão Diária Aceitável (*Acceptable Daily Intake*)

ATOX1 – Proteína Antioxidante 1

ATP – Adenosina Trifosfato

ATP7A – ATPase de transporte de cobre alfa

ATP7B – ATPase de transporte de cobre beta

ATPase – Adenosina Trifosfatase

BAL – Dimercaprol (*British Anti-Lewisite*)

BHE – Barreira Hemato-Encefálica

CCS – Chaperão de Cobre para a Superóxido dismutase

COX – Citocromo C Oxidase

COX11 – Chaperão de Cobre do Citocromo C Oxidase 11

COX17 – Chaperão de Cobre do Citocromo C Oxidase 17

CST – Cobre Sérico Total

CTR1 – Proteína de Transporte de Cobre 1

CuEXC – Fração Permutadora de Cobre (*Exchangeable Copper*)

DMT1 – Transportador de Metal Divalente 1

DPA – D-penicilamina

DW – Doença de Wilson

EASL – Associação Europeia para o Estudo do Fígado (*European Association for the Study of the Liver*)

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority*)

ESPGHAN – Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (*European Society*

for Paediatric Gastroenterology, Hepatology And Nutrition)

EUA – Estados Unidos da América

FDA – *Food and Drug Administration*

FHA – Falência/Insuficiência Hepática Aguda

GSH – Glutathione

KF – Kayser-Fleischer

LTx – Transplante Hepático

MAO – Monoamina Oxidase

MRS – Espectroscopia de Ressonância Magnética (*Magnetic Resonance Spectroscopy*)

NB – Núcleos da Base

NCBC – Cobre Não Ligado à Ceruloplasmina/Cobre Livre (*Non-Ceruloplasmin-Bound Copper*)

OCD – Perturbação Obsessiva-Compulsiva (*Obsessive Compulsive Disorder*)

OMS – Organização Mundial da Saúde

PET – Tomografia por Emissão de Positrões (*Positron Emission Tomography*)

QSM – Mapeamento de Suscetibilidade Quantitativa (*Quantitative Susceptibility Mapping*)

QV – Qualidade de Vida

REC – Cobre Permutador Relativo (*Relative Exchangeable Copper*)

RMC – Ressonância Magnética Cerebral

SCO1 – Enzima de Síntese da Citocromo C Oxidase 1

SCO2 – Enzima de Síntese da Citocromo C Oxidase 2

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD1 – Superóxido Dismutase 1

SZ – Sais de Zinco

TGN – Rede Trans-Golgi (*Trans-Golgi Network*)

TN – Trientina

TN 2HCl – Dicloridrato de Trientina

TN 4HCl – Tetracloridrato de Trientina

TTM – Tetratimolibdato de Amônio

US EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency*)

WI – Índice de King's College Wilson (*Wilson's Index*)

Índice Geral

1	Introdução	15
1.1	Contexto Histórico da Doença de Wilson	15
1.1.1	Descoberta e Caracterização da Doença	15
1.1.2	Evolução da Terapêutica	17
1.1.3	Avanços na Compreensão da Patogênese	18
2	Elemento Cobre	19
2.1	Química.....	19
2.2	Fisiologia.....	20
2.3	Homeostasia Sistêmica	21
2.4	Farmacocinética.....	23
2.4.1	Absorção	23
2.4.2	Distribuição.....	23
2.4.3	Metabolismo/Homeostasia Celular	24
2.4.4	Excreção.....	25
3	Epidemiologia.....	26
4	Patógenese, Diagnóstico, Terapia e Prognóstico da Doença de Wilson com Enfoque Pediátrico.....	29
4.1	Patogênese e Caracterização Clínica.....	29
4.1.1	Patogênese.....	29
4.1.2	Sintomas e Sinais Clínicos Hepáticos.....	31
4.1.3	Sintomas Neurológicos	33
4.1.4	Sintomas Cognitivos e Psiquiátricos.....	35
4.1.5	Outros Sintomas.....	37
4.1.5.1	Sintomas Oftalmológicos.....	37
4.1.5.2	Sintomas Hematológicos	37
4.1.5.3	Sintomas Osteoarticulares.....	37
4.2	Diagnóstico.....	38

4.2.1	Exame Físico.....	40
4.2.2	Exames Bioquímicos e Histopatológicos.....	40
4.2.2.1	Ceruloplasmina Sérica	40
4.2.2.2	Cobre Sérico	40
4.2.2.3	Cobre Hepático (Biópsia Hepática).....	41
4.2.2.4	Cobre Urinário	41
4.2.2.5	Anemia Hemolítica Coombs-Negativa	42
4.2.3	Análise Genética	42
4.2.4	Imagens Radiológicas	42
4.3	Abordagens Terapêuticas.....	43
4.3.1	Dieta	44
4.3.2	Agentes Quelantes de Cobre.....	45
4.3.2.1	D-Penicilamina	45
4.3.2.2	Trientina.....	47
4.3.3	Sais de Zinco	49
4.3.4	Tetratiomolibdato de Amônio.....	51
4.3.5	Transplantação Hepática.....	53
4.4	Prognóstico e Qualidade de Vida.....	54
5	Desafios.....	56
6	Perspetivas Futuras	58
7	Conclusão.....	61
	Bibliografia	63

Índice de Figuras

Figura 1 – Anel de KF num doente com doença de Wilson	15
Figura 2 – Modelo da homeostase do cobre nos enterócitos (à esquerda) e nos hepatócitos (à direita), com especial destaque à ATP7B	22
Figura 3 – Ciclo do cobre	24
Figura 4 – Modelo da homeostase mitocondrial do cobre.....	25
Figura 5 – Taxas anuais de incidência e prevalência da doença de Wilson por sexo.	27
Figura 6 – Taxa anual de prevalência da doença de Wilson por idade.....	28
Figura 7 – Variedade das manifestações nos órgãos e sintomas na doença de Wilson	31
Figura 8 – Estrutura química da D-penicilamina.....	45
Figura 9 – Estrutura química da trientina	47
Figura 10 – Estrutura química do dicloridrato de trientina.....	48
Figura 11 – Estrutura química do tetracloridrato de trientina.....	48
Figura 12 – Estrutura química do sulfato de zinco	50
Figura 13 – Estrutura química do acetato de zinco.....	50
Figura 14 – Estrutura química do gluconato de zinco	51
Figura 15 – Estrutura química do tetratiomolibdato de amónio	52
Figura 16 – Estrutura química do ALXN1840	53

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Prevalência da doença de Wilson em países europeus ocidentais	28
Tabela 2 – Manifestações hepáticas observadas em indivíduos com doença de Wilson	32
Tabela 3 – Manifestações neurológicas em indivíduos com doença de Wilson	34
Tabela 4 – Sistema de Pontuação de Diagnóstico para a DW (Pontuação de Leipzig/Pontuação de Ferenci)	39
Tabela 5 – Opções de tratamento a ser testadas atualmente para a DW	59

1 Introdução

1.1 Contexto Histórico da Doença de Wilson

1.1.1 Descoberta e Caracterização da Doença

Embora as manifestações associadas à Doença de Wilson (DW) fossem já conhecidas desde 1883 com os estudos de Westphal (observação de tremores e rigidez em dois doentes) e Strümpell (observação de doença hepática em autópsia de dois doentes portadores de tremores), a forma clássica da doença foi descrita em 1912 pelo neurologista britânico Kinnier Wilson, correlacionando a sintomatologia dos gânglios da base à doença do fígado, e apelidando-a de degeneração lenticular progressiva ^{1,2}. No seu artigo histórico publicado em 1912 no jornal *Brain* “Progressive lenticular degeneration: a familiar nervous disease associated with cirrhosis of the liver”, Wilson baseou-se nos resultados observados em apenas 4 doentes e nos seus próprios estudos patológicos, já que não acreditava que a patologia hepática fosse um fator significativo na história natural da doença ².

Um facto particularmente interessante é o de que um dos sinais físicos definidores da DW, os denominados anéis da córnea de Kayser-Fleischer (KF) ³ (Figura 1), foram identificados por Kayser 10 anos antes da publicação de Wilson em alguns doentes com esclerose múltipla e mais tarde a doentes com “pseudoesclerose” (mais tarde denominada como DW). Por muitos anos, estes anéis foram, e ainda são, considerados característicos da DW, embora se saiba atualmente que eles podem ser encontrados noutras formas de doença hepática, como a cirrose biliar primária e a colestase crónica ^{1,2}.

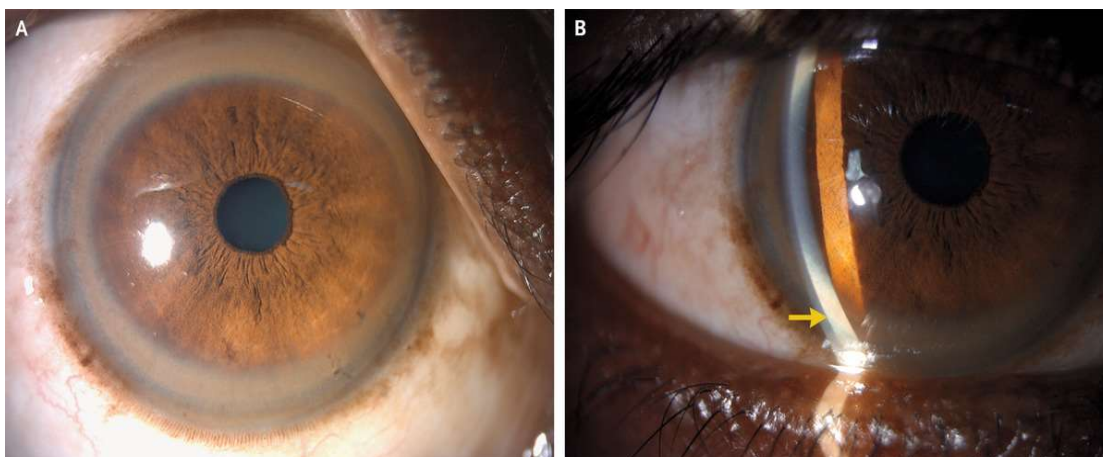


Figura 1 – Anel de KF num doente com doença de Wilson ³

Apenas 1 ano após a publicação original de Wilson na revista *Brain*, o patologista austríaco Rumpel relatou ter encontrado um excesso de cobre no fígado de um doente que estava a morrer com sintomas associados à DW, uma observação cuja importância foi completamente ignorada na altura. Outra observação importante que passou despercebida foi a de Bramwell (1916), que descreveu uma família cujos quatro irmãos morreram, entre as idades de 9 e 14 anos, de ‘cirrose aguda fatal’, sugerindo que isso poderia estar relacionado com a DW e mostrando que a doença tinha uma componente genética. Posteriormente, Hall (1921) sugeriu que esta doença era autossómica recessiva, sugestão essa que foi posteriormente confirmada com mais detalhes por Bearn (1959), a partir da observação de 30 famílias residentes em Nova Iorque ^{1,2}.

Nos 30 anos seguintes, houve pequenos avanços na compreensão da doença, cujo curso permaneceu invariavelmente fatal. Em 1922, Siemerling e Oloff descreveram a associação de uma catarata (catarata *sunflower*) com os anéis de KF e notaram a semelhança das lesões causadas por dano intraocular com fragmentos de cobre. Vogt (1929) e Haurowitz (1930), relataram a acumulação de cobre no cérebro e fígado de doentes com DW ^{1,2} – uma observação mais tarde reportada também por Mandelbrote et al. e Cummings (1948). Para além disso, Mandelbrote observou um aumento da excreção urinária de cobre em doentes com DW, o que revelou ser uma descoberta importante como base para a utilidade diagnóstica do cobre na urina, explorada cerca de 40 anos depois por Martins da Costa et al. (1992) ⁴.

Nos finais da década de 60, Uzman (1957) foi capaz de confirmar a hipótese de Bramwell, em que a DW se pode apresentar como doença hepática em crianças antes do início dos sinais neurológicos. Uzman e colaboradores consideraram que a quantidade excessiva de cobre presente no fígado de doentes com DW se encontrava associada a uma proteína com elevada afinidade para o cobre ^{1,2}.

O avanço mais recente, e talvez o mais importante, ocorreu em 1993, quando três grupos independentes de investigadores relataram na *Nature Genetics* que tinham identificado o gene da DW como uma adenosina trifosfatase (ATPase) do tipo P, uma enzima transportadora de cobre de 140 kDa localizada no cromossoma 13q14, a ATPase de transporte de cobre beta (ATP7B). Não houve mais avanços importantes desde então, exceto pela identificação de mais de 500 mutações deste gene ^{1,2}.

1.1.2 Evolução da Terapêutica

Sir Rudolph Peters (1945) em Oxford relatou o seu trabalho no desenvolvimento de um fármaco anti-arsénio, dimercaprol (*British Anti-Lewisite*, BAL). A relevância deste facto tornou-se evidente quando Mandelbrote et al. (1948) reportou que o BAL aumentava a excreção urinária de cobre e quando Cumings (1951) e Denny-Brown e Porter (1951) postularam que o tratamento com este fármaco poderia interromper o progresso da doença, pois observaram uma melhoria significativa nos sintomas neurológicos dos seus doentes. No entanto, as desvantagens desta terapêutica eram a repetição dos tratamentos, a menor eficácia consecutiva dos mesmos em comparação com o tratamento inicial e a ampla variedade de reações adversas, fazendo com que esta claramente não fosse uma terapêutica ideal ^{1,2}.

O panorama mudou quando Walshe (1960) reportou uma melhoria significativa de um doente com DW após a administração da penicilamina (DPA), a qual promovia uma excreção muito maior de cobre na urina do que o BAL ou o outro agente quelante com utilização terapêutica, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA); ocorreu a Walshe que a DPA, com os seus grupos funcionais –SH e –NH₃, poderia ter a estrutura química certa para quelar cobre e promover a sua excreção no urina ^{1,2}.

Na década de 1960 houve um aumento na série de terapêuticas que favoravelmente influenciou o prognóstico da doença. Schouwink (1961) relatou que os sais de zinco (SZ) poderiam bloquear a absorção de cobre do intestino e, assim, induzir, embora muito lentamente, um balanço negativo de cobre, sendo esta linha de investigação continuada por Hoogenraad et al. (1979) e por Brewer et al. (1981), os quais concluíram que os SZ eram eficazes e seguros no tratamento da DW ^{1,2}.

Numa tentativa de superar os efeitos adversos tóxicos da DPA, que se estavam a tornar aparentes no final da década de 1960, Walshe e Dixon (1982) propuseram o uso do dicloridrato de trientina (trietilenotetramina, TN) como um agente quelante alternativo, o que provou ser uma terapêutica eficaz e com menos efeitos adversos do que a DPA ^{1,2}.

Apesar do transplante de fígado, proposto por Starzl et al. (1971), permitir curar a DW sem que os doentes necessitem de uma terapêutica quelante, exige igualmente uma imunossupressão vitalícia ^{1,2}.

Nesta perspetiva histórica, destaca-se o uso do tetratiomolibdato de amónio (TTM), primeiramente testado para o tratamento da DW em 1984, o qual demonstrou uma significativa eficácia (nomeadamente a nível histológico) perante um doente intolerante à DPA, TN e SZ ⁵.

1.1.3 Avanços na Compreensão da Patogénese

Os avanços significativos no tratamento da DW, referidos em 1.1.2, foram sendo acompanhados por progressos na compreensão da sua patogénese.

Holmberg e Laurell (1948) descobriram uma proteína transportadora de cobre no plasma que chamaram de ceruloplasmina, cujas concentrações, reportadas independentemente por Bearn e Kunkel (1952) e Scheinberg e Gitlin (1952), se encontravam baixas ou ausentes em todos os doentes com DW. No entanto, o papel da ceruloplasmina foi amplamente discutido pois Uzman e Hood (1952) corretamente relataram que as concentrações em doentes com DW eram bastante variáveis e frequentemente sobrepostas àsquelas encontradas em portadores assintomáticos da doença. Estas descobertas forneceram a base para potenciais diagnósticos que pudessem ser mais diretos ^{1,2}.

Walshe e Osborn (1965, 1967) desenvolveram um método para determinar a absorção de cobre pelo fígado e a sua consequente distribuição pelo corpo, após se terem apercebido do potencial de usar um isótopo radioativo do mesmo. Estes investigadores relataram que, nas fases pré-sintomáticas da doença, o fígado apresentava uma alta afinidade para o isótopo mas que, à medida que a doença progredia, a captação hepática era menos eficaz e este podia ser encontrado distribuído por outros tecidos. No entanto, o tratamento com agentes quelantes retirava o cobre do fígado e restaurava a sua capacidade de sequestrar o metal ². Walshe (2013) reportou também a existência de hemólise em 6,9% de 321 doentes e que esta era extravascular, que a idade média de início da DW era de 12,6 anos e que havia uma proporção de mulheres para homens de 2:1 ^{2,6}.

2 Elemento Cobre

2.1 Química

O cobre encontra-se maioritariamente em rochas basálticas ⁷, em plantas e invertebrados marinhos, mas Bodansky (1921) reportou que o cobre também era constituinte dos tecidos humanos quando se referiu à sua presença no cérebro ^{8,9}. Este elemento é um metal de transição que apresenta uma cor avermelhada, uma excelente condutividade elétrica e térmica e uma ótima estabilidade à temperatura ambiente ⁷. Tem dois estados de oxidação predominantes nos sistemas biológicos, Cu^{2+} (cúprico) e Cu^+ (cuproso); o Cu^+ é altamente insolúvel em soluções aquosas e mais instável e, portanto, é fortemente complexado com várias biomoléculas e facilmente oxidado a Cu^{2+} , enquanto o Cu^{2+} (também chamado cobre livre) é solúvel em fluidos biológicos ^{8,9}.

O cobre cúprico, forma diversos compostos de coordenação; estes são complexos cujas ligações se formam entre os doadores de pares de eletrões, conhecidos como ligantes, e os aceitadores de pares de eletrões, os átomos ou iões metálicos (Cu^{2+}) ¹⁰. O número de pares de eletrões doados ao metal é conhecido como o seu número de coordenação, o que no caso do cobre é entre 4 e 6 ¹¹. A maioria dos compostos de coordenação de Cu^{2+} forma rapidamente aductos com glutathione no meio celular, o que leva à formação de um composto de coordenação de Cu^+ monovalente capaz de gerar o anião superóxido que pode induzir a formação de espécies reativas de oxigénio numa reação de Fenton. Devido à alta atividade redox, a eficácia terapêutica dos compostos de coordenação de cobre não se limita à ação antiproliferativa, ou seja, antitumoral; estes também podem ser altamente eficazes no tratamento de infeções virais, doenças inflamatórias e infeções microbianas por múltiplos mecanismos de ação ¹².

A sua biodisponibilidade varia de acordo com a dieta: se o indivíduo tiver uma dieta rica em cobre (7,5 mg/dia) a biodisponibilidade é de 12%, mas se tiver uma dieta pobre (400 µg/dia) esta passa a ser de 75% ¹³. Para além disto, a biodisponibilidade também varia de acordo com a ingestão de outros nutrientes, que interagem com a absorção de cobre, como o zinco, ferro, hidratos de carbono, entre outros ⁸.

A toxicidade do cobre por excesso ou sobrecarga do mesmo não é frequente, devido ao apertado controlo homeostático dos níveis do metal, embora o

envenenamento por este tenha já ocorrido através da ingestão de bebidas armazenadas em recipientes revestidos com cobre e por abastecimentos de água doméstica contaminados; como tal, foram estabelecidos limites dos níveis de cobre para água potável pela US EPA (1,3mg/L) e pela OMS (2mg/L). No entanto, os riscos da toxicidade do cobre são mais frequentes para recém-nascidos e crianças de menor idade, dado o sistema de excreção biliar imaturo; dados reportados no passado sobre a acumulação hepática do cobre nas crianças foram ligados à preparação de fórmulas com água potável contaminada e o consumo de outros alimentos armazenados em recipientes contaminados ^{8,9}.

Quando a capacidade de armazenamento do cobre é ultrapassada, os efeitos tóxicos do cobre não ligado à ceruloplasmina (NCBC) tornam-se evidentes. A ingestão aguda excessiva pode causar dor ou desconforto abdominal, náuseas, vômitos e diarreia enquanto uma exposição crônica pode resultar num dano hepático grave, falência renal, coma e até morte. Os danos hepáticos decorrentes da ingestão de cobre até 10 mg/dia não têm sido observados em indivíduos geralmente saudáveis, daí que este valor tenha constituído a base para a determinação do limite superior a este nível. Quanto à toxicidade crônica do cobre, esta é uma característica de doenças genéticas como a DW, cirrose infantil indiana e toxicose idiopática hepática crônica, por exemplo ^{8,9,14}.

Existem na natureza 7 isótopos radioativos de cobre, sendo que há dois isótopos estáveis, o ⁶³Cu e o ⁶⁵Cu, que são os mais frequentemente utilizados para rastrear a absorção, utilização, excreção e *turnover* do cobre em humanos ⁹. Os outros 5 radioisótopos são mais utilizados em aplicações de imagem molecular (⁶⁰Cu, ⁶¹Cu, ⁶²Cu e ⁶⁴Cu) e radioterapia direcionada *in vivo* (⁶⁴Cu e ⁶⁷Cu) ^{8,15}.

2.2 Fisiologia

O cobre é um mineral indispensável para o desenvolvimento e replicação de seres eucarióticos e tem um papel importante nos humanos como cofator enzimático de cuproenzimas (a maioria das quais são oxidases) como ferroxidases, monoaminoxidases (MAOs), citocromo C oxidase, entre outras, as quais se encontram envolvidas em reações de transferência de eletrões entre substratos e oxigénio molecular (O₂), usando quer cobre oxidado (Cu²⁺) quer reduzido (Cu⁺); estas cuproproteínas estão envolvidas em imensos processos biológicos fundamentais como

a produção de ATP, estabilização de colagénio e osso na formação de tecido conectivo e ósseo, metabolismo do ferro, função cardíaca, metabolismo lipídico, desenvolvimento e função do SNC, memória, função imunitária, funções antioxidantes, entre outros ^{8,9,16}.

2.3 Homeostasia Sistémica

De um modo geral, a homeostase do cobre no corpo humano inclui a modulação da absorção intestinal do cobre e a sua excreção hepática ⁸. A regulação da entrada e efluxo deste metal parece ser norteadas predominantemente pelo tráfego de proteínas sensíveis ao cobre ⁹.

O cobre cúprico oriundo da dieta alimentar (Cu^{2+}) tem de ser reduzido para cobre cuproso (Cu^+) a fim de poder entrar nos enterócitos, através da proteína de transporte de cobre 1 (CTR1), pelo qual o metal apresenta uma elevada afinidade ^{9,17-19}; o transportador de metal divalente 1 (DMT1) também é capaz de transportar cobre ²⁰ mas de uma forma mais inespecífica, tendo em conta que transporta outros iões metálicos divalentes, principalmente o ferro ²¹.

A expressão da proteína CTR1 para a superfície celular é provavelmente regulada pelos níveis celulares do cobre: o excesso de cobre promove a endocitose do transportador, de tal modo que a deficiência do mesmo restaura a expressão na membrana apical ¹⁹; depois do cobre entrar nas células, ele liga-se a vários chaperões de cobre como a proteína antioxidante 1 (ATOX1), o chaperão de cobre para a superóxido dismutase (CCS) e o chaperão de cobre do citocromo C oxidase 17 (COX17) responsáveis por fazer chegar este elemento a compartimentos intracelulares específicos (Figura 2); a ATOX1 entrega o cobre do citosol às proteínas de transporte: ATPase de transporte de cobre alfa (ATP7A) e ATP7B, que estão presentes na membrana da rede trans-Golgi (TGN) (Figura 2) ^{9,17-19}; estes transportadores são responsáveis por fornecer o cobre ao lúmen da TGN, onde este vai ser incorporado em diversas cuproproteínas ¹⁷⁻¹⁹.

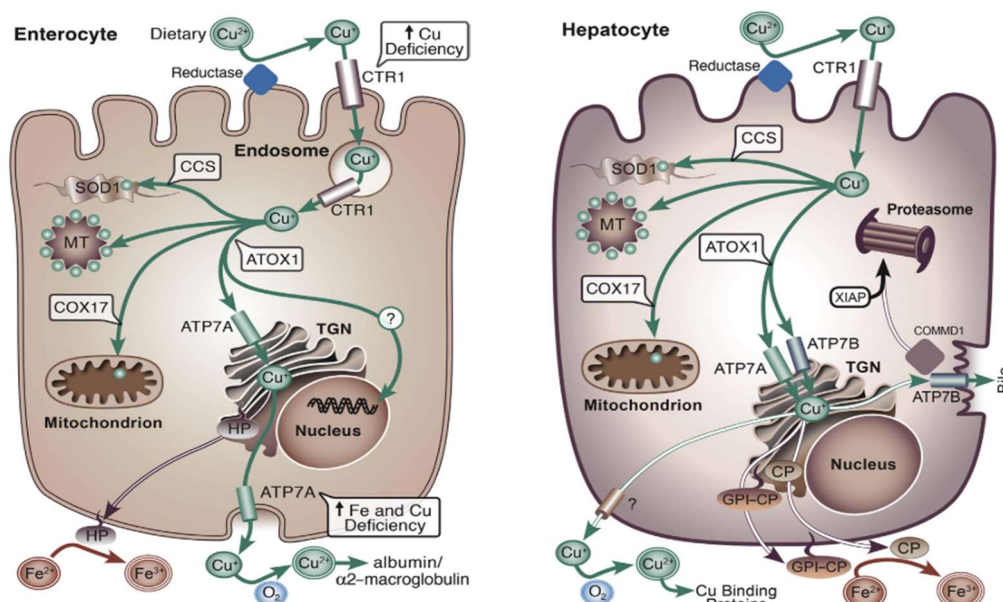


Figura 2 – Modelo da homeostase do cobre nos enterócitos (à esquerda) e nos hepatócitos (à direita), com especial destaque à ATP7B ⁹

A ATP7A tem uma distribuição mais ampla e, como medeia o efluxo do cobre por parte dos enterócitos, é requerida para a absorção enteral do cobre; esta proteína também funciona intracelularmente na entrada do cobre para a TGN, a fim de apoiar a síntese de cuproenzimas. Por outro lado, a ATP7B encontra-se mais restrita, por exemplo no fígado, córnea, certos neurónios e tecido mamário. Na presença de baixos níveis intracelulares de cobre, a ATP7B agrupa-se na TGN, mas redistribui-se para vesículas citosólicas em direção à membrana plasmática quando estes níveis aumentam, de modo a facilitar o efluxo do cobre por exocitose (Figura 2), exportando-o para a veia hepática portal ^{8,9,18,19}. O cobre que saiu das células epiteliais intestinais liga-se à albumina no sangue e é transportado até ao fígado, onde ocorre a incorporação do cobre na ceruloplasmina, uma α_2 -globulina responsável pelo transporte de 50% - 90% de cobre para a circulação sistémica ^{19,22}.

A ATP7B é expressa maioritariamente nos hepatócitos apresentando 2 funções específicas como fornecer cobre à TGN para incorporação do mesmo na ceruloplasmina e facilitar a excreção biliar do excesso de cobre ao translocar-se para compartimentos lisossomais e endossomais e ao sequestrar o cobre para dentro de vesículas de modo a exportá-lo através da membrana apical (canalicular) (Figura 2) ^{8,9,18,23,24}.

2.4 Farmacocinética

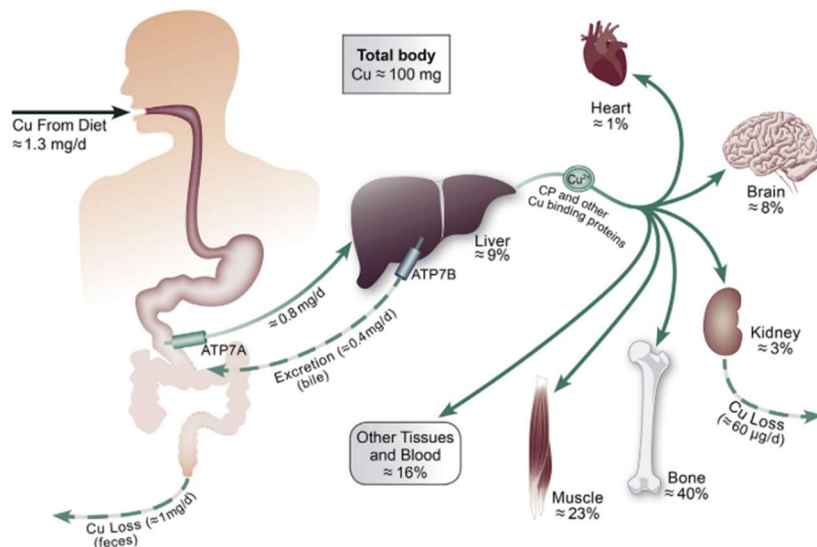
2.4.1 Absorção

A ingestão diária recomendada de cobre é de 0,9 mg, sendo que as melhores fontes dietéticas deste elemento são produtos integrais, sementes, nozes, carne orgânica, marisco, cereais de farelo de trigo e alimentos contendo chocolate ^{8,9,13}. No entanto, segundo a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA), a ingestão diária aceitável (ADI) é atualmente de 0,07 mg/kg de peso corporal, após avaliação de evidências científicas ²⁵. A ingestão média diária de cobre varia entre 1 a 1,6 mg ⁸, em que cerca de 0,8 mg são absorvidos diariamente e maioritariamente por via intestinal ⁹.

As dietas veganas fornecem um bom aporte de cobre, embora a sua absorção seja menor em alimentos vegetais, tal como os suplementos alimentares, os quais se encontram frequentemente na forma de óxido cúprico, cuja biodisponibilidade também é menor ^{8,9}.

2.4.2 Distribuição

A dose diária absorvida (0,8 mg) é distribuída primeiramente para o fígado ⁹; seguidamente o cobre é incorporado na ceruloplasmina, uma ferroxidase contendo 6 átomos de cobre e responsável pelo transporte maioritário do mesmo ²⁶, sendo mais tarde secretada para o sangue, juntamente com o cobre atómico, que seguidamente se liga a proteínas. O teor total de cobre no corpo ronda os 100 mg, com a seguinte distribuição: osso e músculo (~63%), fígado (~9%), cérebro (~8%), rim (~3%), coração (~1%), e aproximadamente 16% no sangue e outros tecidos (Figura 3) ⁹.



*Figura 3 – Ciclo do cobre*⁹

2.4.3 Metabolismo/Homeostasia Celular

O cobre não consegue ser criado nem destruído por processos metabólicos, daí que tenha de ser adquirido por fontes externas¹⁸; no entanto intervém em vários processos metabólicos celulares.

Na homeostasia celular, o ATOX1 tem o papel essencial de fornecer o cobre às ATP7A e ATP7B, ambas localizadas na TGN e facilitam o transporte do micronutriente para o lúmen dos organelos¹⁹. Para além disso, outros chaperões de cobre também vão ser importantes para o metabolismo do metal; é o caso do CCS, que vai ajudar na maturação e incorporação do cobre na superóxido dismutase 1 (SOD1) para o citosol, facto este que ocorre igualmente no espaço intermembranar mitocondrial; outro exemplo é o da COX17, que funciona no destino mais importante do cobre, a mitocôndria, participando na entrega do elemento e maturação da citocromo C oxidase (COX), uma enzima crítica na respiração aeróbia, que tem uma função importante na homeostase mitocondrial do cobre (Figura 4)¹⁷⁻¹⁹.

Outros chaperões para a maturação da COX incluem o chaperão de cobre da citocromo C oxidase 11 (COX11), a enzima de síntese da citocromo C oxidase 1 (SCO1) e a enzima de síntese da citocromo C oxidase 2 (SCO2) (na membrana interna mitocondrial), sendo que o primeiro está envolvido na incorporação do cobre para os sítios Cu_B na COX e os últimos dois na incorporação do cobre e maturação no sítio Cu_A na COX (Figura 4)¹⁷. Após realizada a ação da ATOX1, a ATP7A e a ATP7B entregam

o micronutriente para a via secretória que é responsável pela localização das enzimas transportadoras para a membrana celular correta ou para o espaço extracelular ²⁷. O excesso de cobre no citosol liga-se à metalotioneína, uma enzima importante na proteção do stress oxidativo e de metais tóxicos, mediada pela glutatona (GSH) e que reduz assim os íons livres de cobre, evitando a toxicidade causada por estes ^{19,28,29}. Apesar da compartimentalização existente, existe uma eficiente comunicação entre os vários organelos, a qual permite restaurar a homeostasia interna ¹⁷.

2.4.4 Excreção

O cobre endógeno é excretado na bÍlis via hepatÓcitos, um processo que envolve a ATP7B, perfazendo aproximadamente 0,4mg/dia (Figura 4) ⁹; este cobre excretado estÁ ligado a sais biliares e, por isso, indisponÍvel para a sua reabsorçÓo, que depois volta ao intestino para ocorrer a excreçÓo fecal; para alÉm da secreçÓo biliar, tambÉm as secreçÓes salivar, gÁstrica e pancreÁtica fornecem cobre ao trato gastrointestinal, embora a maioria deste seja reabsorvido pelo duodeno, havendo assim uma grande reciclagem/reutilizaçÓo do metal; deste modo, a excreçÓo fecal total ronda os 1mg/dia (Figura 4) ^{9,30}.

A perda de cobre pela urina é insignificante, dado que sÓo perdidos apenas 30-60 µg/dia (Figura 4), mas a disfunçÓo renal pode levar a um aumento destas perdas ⁹. Outras vias de excreçÓo sÓo tambÉm referidas na literatura, nomeadamente o suor ^{31,32}, o cabelo ³³ e a descamaçÓo da pele ³², ainda que em doses diÁrias baixas.

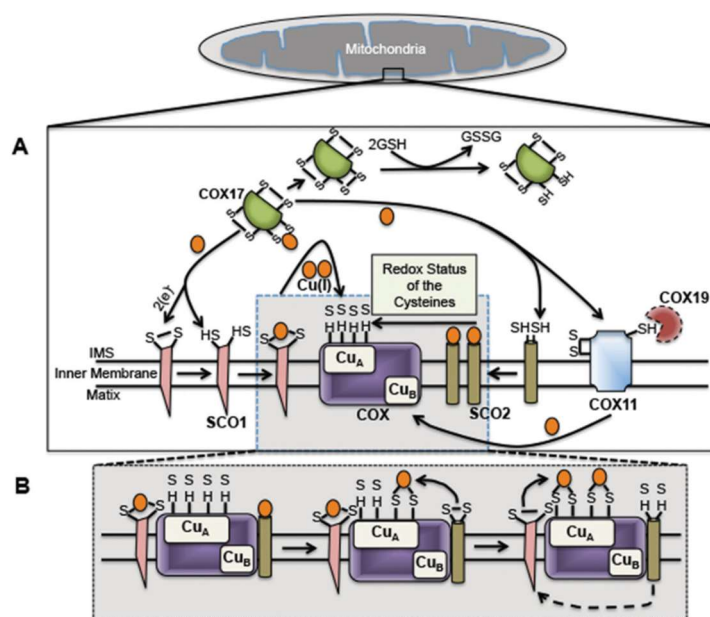


Figura 4 – Modelo da homeostase mitocondrial do cobre ¹⁷

3 Epidemiologia

A primeira noção de prevalência da DW data de 1968 por Sternlieb e Scheinberg, na qual estimaram que esta doença afetava 5 em cada milhão de indivíduos. Em 1984, e com os dados disponíveis à data, os mesmos autores atualizaram a sua estimativa para 1:30000 pessoas, sendo esta a proporção mais utilizada na atualidade ^{34,35}. No entanto, devido ao avanço tecnológico, o aparecimento de ferramentas genéticas mais sofisticadas levaram a uma revisão da prevalência genética desta doença e também à distinção entre prevalência genética e prevalência clínica, na medida em que há uma discrepância significativa entre o número de indivíduos previstos a ser afetados pela DW, com base em estudos genéticos (prevalência genética) e os já afetados ou diagnosticados clinicamente (prevalência clínica) ³⁶.

De qualquer modo, estudos recentes demonstraram que a estimativa de 1984, embora com as suas limitações, não está longe das calculadas atualmente, apesar de que a DW possa ser consideravelmente mais comum dado o difícil diagnóstico ³⁵. Os três estudos clínicos, realizados em populações mais numerosas de doentes, mais completos e com melhor qualidade pertencem aos que foram conduzidos em França, Taiwan e Reino Unido, cujas prevalências clínicas calculadas foram 1,5:100000 ³⁷, 1,81:100000 ³⁸ e 1,55:100000 habitantes ³⁹, respetivamente.

Alguns locais podem ter uma prevalência clínica mais alta da DW, facto que se encontra relacionado com consanguinidade ou com uma maior frequência de mutações, ou com ambos os fatores. É o caso da Sardenha que apresenta a prevalência mais alta do mundo com a DW a afetar 10 em cada 100000 pessoas; tratando-se de uma ilha, o constante isolamento e as relações consanguíneas frequentes originaram também uma alta frequência de mutações ^{34,40}. Refira-se igualmente o caso de Costa Rica com uma prevalência de 4,9:100000 habitantes, possivelmente devido ao elevado grau de consanguinidade ⁴¹; o mesmo acontece no Médio Oriente, nomeadamente na Arábia Saudita, em que se concluiu que a DW é comum nesta zona, provavelmente devido à alta taxa de casamentos consanguíneos ⁴².

Recentemente, Gao et al. (2019) realizaram uma meta-análise a partir das estimativas de prevalência para a DW registadas na literatura, após compilação das variantes patogénicas bialélicas no gene ATP7B. Desta forma global, a prevalência

genética da DW estimada foi igual a 13,9:100000, mostrando ser superior a estimativas anteriores provavelmente afetadas por uma elevada heterogeneidade em termos de população, diagnóstico e metodologias ⁴³. A este propósito, refira-se que num estudo realizado em 2016 sobre a população sul-coreana já tinha sido demonstrado que a prevalência genética estaria a sofrer um aumento, provavelmente devido a um maior conhecimento científico sobre a doença e a técnicas mais avançadas que permitem um diagnóstico mais fiável ⁴⁴.

Esta doença afeta de igual forma homens e mulheres, em termos de prevalência, dado que não há uma diferença estatística significativa neste estudo (Figura 5) ⁴⁴, tal como no estudo francês e na base de dados europeia ⁴⁵; no entanto, as mulheres são mais frequentemente diagnosticadas com sinais hepáticos e têm uma maior probabilidade de apresentarem insuficiência hepática aguda (FHA), especulando-se que haja uma interferência do estrogénio com a dopamina no cérebro e com o metabolismo do ferro ⁴⁵; já os homens, no momento do diagnóstico e entre os doentes que são sintomáticos, são mais propensos a ter doença neuropsiquiátrica (75 versus 58%) ⁴⁶. Relativamente à idade foi observado que há um maior aumento nos indivíduos com idade inferior a 40 anos do que os com idade superior a 40 anos (Figura 6) ⁴⁴.

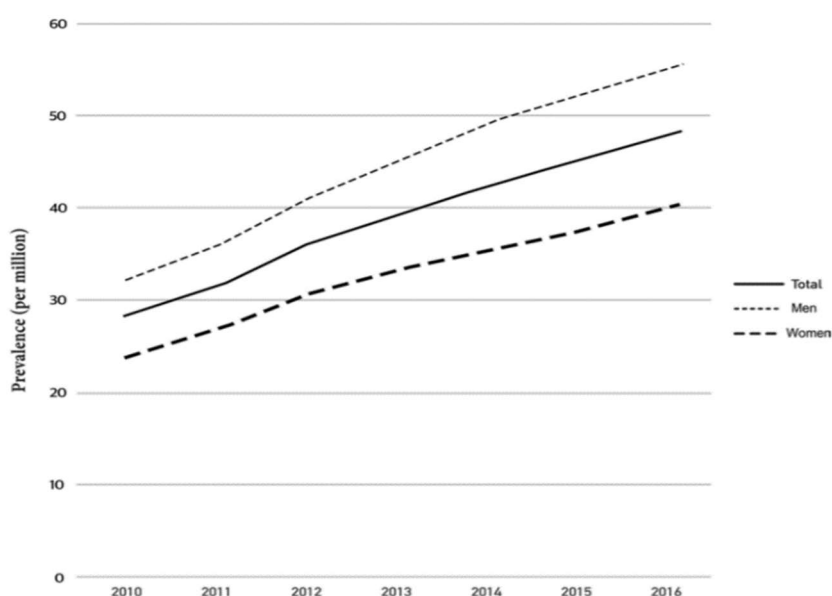


Figura 5 – Taxas anuais de incidência e prevalência da doença de Wilson por sexo ⁴⁴

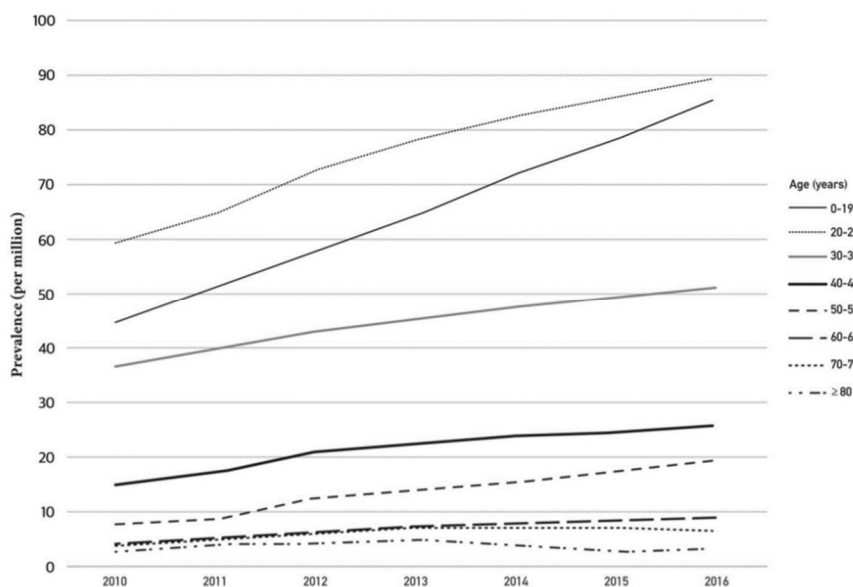


Figura 6 – Taxa anual de prevalência da doença de Wilson por idade ⁴⁴

Relativamente a Portugal, refere-se o artigo de Rosa et al. (2021), no qual os autores caracterizaram a população de doentes com DW seguida no Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central entre 2009 e 2017, tentando identificar os fatores provavelmente associados ao envolvimento neurológico da doença no momento do seu diagnóstico. Este foi um estudo com as limitações associadas ao facto de ter sido retrospectivo e realizado num único centro, onde se observou uma maior prevalência nos indivíduos entre os 20 e 40 anos ⁴⁷, à semelhança do observado no estudo sul-coreano anteriormente referido ⁴⁴. Desta forma, na construção da Tabela 1, foram usados dados de prevalência (clínica e genética) a partir de estudos feitos em populações geneticamente semelhantes aos portugueses – ingleses ^{34,39,48}, espanhóis ⁴⁹ e franceses ^{37,50}, podendo sugerir uma prevalência de 1,55:100000 habitantes para Portugal, embora isto deva ser confirmado com estudos clínicos e genéticos na população portuguesa.

Tabela 1 – Prevalência da doença de Wilson em países europeus ocidentais

País	Prevalência Clínica	Prevalência Genética (Heterozigótica/Homozigótica)
Inglaterra	1,55:100000 ³⁹	1:25 / 14,2:100000 ^{34,48}
Espanha	1,6:100000 ⁴⁹	-
França	1,5:100000 ³⁷	1:31 / - ⁵⁰

A discrepância marcante entre a prevalência genética heterozigótica da homozigótica e do número de casos diagnosticados na clínica pode ser devido tanto à reduzida penetrância das mutações do gene ATP7B como à falha no diagnóstico dos indivíduos com esta doença ⁴⁸.

4 Patógenese, Diagnóstico, Terapia e Prognóstico da Doença de Wilson com Enfoque Pediátrico

4.1 Patogénese e Caracterização Clínica

4.1.1 Patogénese

A Doença de Wilson é uma doença hereditária autossômica recessiva causada por uma ATPase do tipo P transportadora de cobre defeituosa, devido a mutações no gene ATP7B, expressa predominantemente em hepatócitos, mas também no cérebro, seios e placenta. A disfunção resultante da proteína ATP7B leva a uma síntese reduzida de ceruloplasmina e ao transporte reduzido de cobre para fora das células com uma excreção reduzida do mesmo na bÍlis, o que provoca a acumulação progressiva de cobre nos Órgãos afetados e, conseqüentemente, uma combinação de sintomas principalmente hepáticos, cerebrais e psiquiátricos ^{35,51-54}.

Estudos recentes têm vindo a demonstrar que a mitocôndria é um potencial alvo precoce do excesso de cobre; o cobre vai afetando, de um modo crescente, a estrutura mitocondrial e as proteínas mitocondriais que estão essencialmente envolvidas em funções energéticas; isto conduz à diminuição da capacidade de produção de adenosina trifosfato (ATP), à destruição mitocondrial nos hepatócitos e à diminuição da estimulação de genes envolvidos na síntese do colesterol, o que dá origem à esteatose. As lesões crónicas levam à inflamação ou hepatite, e as tentativas de reparo resultam em fibrose ^{28,53}; as lesões hepáticas crónicas conduzem, eventualmente, a cirrose e hipertensão portal ⁵⁵.

Os níveis diminuídos de ceruloplasmina fazem com que a albumina atue como substituta para se ligar ao cobre libertado pelos hepatócitos danificados, para além do cobre absorvido no intestino. No entanto, esta capacidade da albumina é limitada e

parece que o cobre se liga fracamente à proteína, fazendo com que este metal se dissocie facilmente e, assim, fique disponível para ser captado por outros órgãos; por esse motivo, o cobre acumula-se noutros órgãos como o cérebro, córnea e rins, levando a danos celulares mediados pelos radical Cu^+ livre, por exemplo uma tubulopatia renal^{53,55}. A exposição crónica a cobre provoca danos nos astrócitos e desmielinização no cérebro, maioritariamente nos núcleos da base (NB) e no tálamo; o NCBC em concentrações elevadas no sangue causa hemólise, devido ao *stress* oxidativo⁵³.

O excesso de cobre também interfere com o metabolismo do ferro porque a ceruloplasmina tem atividade ferroxidásica, para a qual é necessário o cofator cobre; esta atividade de oxidar o ião ferroso (Fe^{2+}) a ião férrico (Fe^{3+}) é importante para o transporte do ferro dado que apenas o ião férrico é incorporado na transferrina, que é a principal proteína de transporte do ferro. Assim, nos indivíduos com DW vão-se encontrar níveis baixos de ceruloplasmina e, por causa disso, níveis baixos circulantes de ferro e níveis altos de ferro armazenado, levando, eventualmente, a uma acumulação de ferro no fígado e outros órgãos^{19,21}.

Nas crianças, principalmente as de maior idade, os sintomas e sinais clínicos da DW são altamente variados; embora a doença hepática seja a principal manifestação nas crianças e adolescentes, manifestações clínicas neurológicas, psiquiátricas e hematológicas são também observadas (Figura 7)⁵¹.

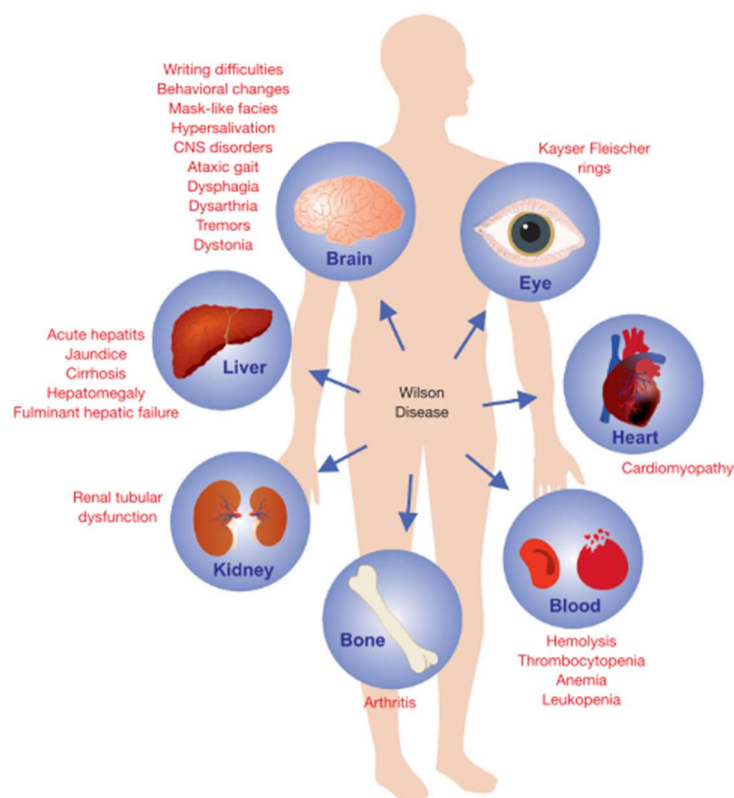


Figura 7 – Variedade das manifestações nos órgãos e sintomas na doença de Wilson

55

4.1.2 Sintomas e Sinais Clínicos Hepáticos

O transporte diminuído de cobre através do ATP7B para a TGN causa uma reduzida excreção biliar e consequentemente uma sobrecarga hepática do micronutriente, o que vai dar origem a esteatose, necrose, fibrose, cirrose, entre outros⁵⁶ (Tabela 2). Para além disto, a insuficiente incorporação do cofator (cobre) na apoceruloplasmina resulta na sua degradação, daí a concentração plasmática muito baixa de ceruloplasmina nesta doença⁵⁵⁻⁵⁷.

Tabela 2 – Manifestações hepáticas observadas em indivíduos com doença de Wilson

58

Sintomas e Sinais hepáticos	Prevalência dos sintomas
Hepatomegalia	16-29%
Esplenomegalia isolada	16-29%
Elevações persistentes das transaminases	18-23%
Icterícia, anorexia e vômitos	37-44%
Esteatose hepática	-
Sintomas semelhantes a hepatite autoimune	-
Hepatite aguda	-
Cirrose compensada	-
Cirrose descompensada (com icterícia, ascite, varizes esofágicas, encefalopatia hepática, hepatoma)	Ascite/Edema – 23-26%
FHA (com coagulopatia, hemólise e encefalopatia hepática)	-

A doença hepática constitui a manifestação clínica mais frequentemente observada da DW, principalmente em crianças, adolescentes e jovens adultos, sendo que os sintomas normalmente não aparecem antes dos 3-5 anos, acontecendo geralmente entre os 5 e os 35 anos. No entanto, têm sido reportadas na literatura algumas exceções; são exemplos os casos de um bebê de 13 meses com transaminite (aumento rápido, transitório e benigno das aminotransferases hepáticas), um bebê de 3 anos com cirrose, e uma criança de 5 anos com FHA. Embora alguns doentes desenvolvam uma FHA, muitas crianças e adultos podem-se manter clinicamente assintomáticos durante um longo período de tempo ^{52,57,58}.

A maioria das crianças apresenta-se com uma doença hepática, que pode ir da descoberta acidental das transaminases aumentadas em crianças assintomáticas com mais de 1 ano, hepatite aguda, hepatomegalia, até FHA ou cirrose (8-12 anos), embora as manifestações clínicas sejam frequentemente inespecíficas, como fadiga, anorexia ou dor abdominal ^{51,52}.

Relativamente aos vários sintomas: a icterícia é típica de um envolvimento hepático mais grave, mas pode ser devido a hemólise intravascular, a epistaxis foi mencionada frequentemente como queixa comum em relatórios pediátricos, e a hepatite aguda pode ser o único sintoma presente da DW sendo que, nas crianças, assemelha-se muito à hepatite autoimune. Em diversas publicações sobre a DW em pediatria a esteatose hepática tem sido uma característica proeminente de doença hepática ligeira, mas de difícil diferenciação relativamente à esteato-hepatite não alcoólica. Por outro lado, a cirrose na DW pediátrica é um tema complicado pois o seu desenvolvimento é altamente variável nas crianças, isto porque, em parte, depende da natureza das mutações no gene ATP7B. Quanto à sua prevalência, esta também pode variar, embora alguns trabalhos publicados munidos de um conjunto razoável e completo de dados, apresentem estimativas de prevalência na ordem de 34% para cirrose em crianças ⁵¹. Na tabela 2 apresentam-se todos os sintomas a nível hepático descritos em crianças, bem como a prevalência correspondente ⁵².

4.1.3 Sintomas Neurológicos

O NCBC também é capaz de passar para o cérebro e, assim, provocar deficiências motoras, para além de outros sintomas neurológicos descritos na DW (Tabela 3). Os neurónios não armazenam cobre e, por isso, as perdas neuronais na DW (que deverão ser secundárias e não específicas) poderão dever-se à ineficácia da astrogliia em mediar a desintoxicação dos neurónios, e também à toxicidade dos iões cobre libertados a partir de astrócitos danificados por edema e degeneração. A este propósito refira-se que os astrócitos que capturam cobre no SNC sofrem edema, proliferação, hiperplasia e alterações degenerativas (tal como acontece nos hepatócitos no fígado) e se transformam em formas específicas de células gigantes com morfologia característica. Os iões de cobre atravessam a barreira hemato-encefálica (BHE) para o espaço ao redor dos capilares, de onde são capturados pela astrogliia ⁵⁹; para além disto, a síntese da metalotioneína é estimulada em resposta ao armazenamento do cobre no cérebro. A exposição crónica ao cobre a longo prazo leva finalmente à destruição dos astrócitos e da BHE, à desmielinização do cérebro e atinge ainda outros neurónios e outras áreas cerebrais ^{28,60}.

Tabela 3 – Manifestações neurológicas em indivíduos com doença de Wilson ⁶¹

Sintomas neurológicos	Prevalência dos sintomas
Disartria	91%
Distonia	69%
Parkinsonismo	Rigidez – 66% Tremor em repouso – 5% Bradicinésia – 58%
Perturbações cerebelares	28%
Coreia	16%
Atetose	14%
Comprometimento cognitivo	4,2%

As anormalidades cerebrais macroscópicas mais comuns encontram-se nos NB, mas também já foram observadas no tálamo, no tronco cerebral e no lobo frontal. Existem algumas hipóteses que tentam explicar o porquê destas anormalidades se localizarem maioritariamente nos NB tais como: (i) o cobre penetrar no sítio do *plexus coroides* através do endotélio fenestrado para o cérebro, acumulando-se perto dos NB; (ii) a destruição dos NB ser causada pelas consequências estruturais e funcionais da ATP7B mutada, dado que não foi descrita deposição neuronal de cobre em estudos animais; (iii) a consequente inibição da síntese de ceruloplasmina (devido à ATP7B mutada) perturbar a libertação celular de ferro, levando a uma deposição intracelular de ferro excessiva, especialmente nos NB, necessitando esta hipótese, no entanto, de estudos e avaliações adicionais ^{55,61}.

Embora a DW hepática seja a manifestação mais comum da DW na infância, a DW neurológica também ocorre afetando crianças na sua primeira década e adolescentes ⁵¹; estudos na literatura sugerem que acima de 15% de doentes com DW desenvolvem sintomas ou sinais neurológicos durante a infância ^{62,63}. De uma forma geral, a DW neurológica traduz-se num distúrbio motor com distonia ou tremor ou uma redução dos movimentos assemelhando-se à rigidez parkinsoniana (Tabela 3); a paralisia pseudobulbar pode ocorrer com ambas as formas de apresentação da DW neurológica, sendo as suas características principais a sialorreia, disartria e problemas de deglutição; convulsões e/ou hiperreflexia foram descritos como manifestações

atípicas nalguns adolescentes ⁵¹. Num estudo pediátrico paquistanês, abrangendo 50 crianças, as manifestações clínicas mais regulares foram disartria, distonia e declínio cognitivo, observando-se igualmente disfagia, sialorreia e dificuldade na locomoção ⁶⁴, confirmando assim os principais sintomas motores descritos em crianças.

A disartria é caracterizada por um discurso lento, fraco e descoordenado, que pode ser causado por qualquer condição que danifique as estruturas que controlam os movimentos, dentro das quais se encontram os NB; relativamente à distonia, esta é descrita por contrações musculares involuntárias, produzindo movimentos repetitivos e posturas anormais, podendo variar de casos ligeiros a doença grave e manifestar-se como focal, segmental, multifocal ou sintomas generalizados; o tremor, definido como um movimento oscilatório, rítmico e involuntário de uma parte do corpo, começa normalmente por um membro, espalhando-se posteriormente para o corpo todo; em algumas publicações, o tremor é relatado como a manifestação neurológica mais frequente da DW, sendo o tremor proximal de alta amplitude, caracterizado pela abdução sustentada dos braços, em que os cotovelos estão flexionados e as palmas das mãos viradas para baixo, característico da DW ^{61,65,66}.

4.1.4 Sintomas Cognitivos e Psiquiátricos

Tal como referido anteriormente, a DW afeta, dentro do SNC, os NB, capazes de originar síndromes psiquiátricas em condições disfuncionais e, por isso, a DW pode apresentar-se com uma grande variedade de sintomas psiquiátricos e cognitivos. Pensa-se que o cobre, que é essencial para a função cerebral normal, tenha também algum papel em diversas doenças psiquiátricas, embora o exato mecanismo não seja conhecido ^{67,68}; foi postulado que o excesso de cobre pode afetar a atividade da dopamina através de várias enzimas dependentes de cobre, como a dopa-descarboxilase, beta-hidroxilase e MAO, resultando então em consequências comportamentais e psiquiátricas ⁶⁸; também pode haver um mecanismo comum para algumas mudanças no comportamento, perturbações no humor e ansiedade observadas em pessoas com doenças que afetam os NB, e o envolvimento das mesmas vias de transmissores (dopaminérgico, serotoninérgico, noradrenérgico) em diferentes doenças pode levar a recomendações similares relativamente ao tratamento farmacológico ⁶⁷.

Dados epidemiológicos sugerem que 1/3 das pessoas com DW manifestam inicialmente sintomas psiquiátricos, sendo que a primeira apresentação psiquiátrica da

DW pode ocorrer na infância e aparecer como um declínio no desempenho académico, comportamento inapropriado ou impulsividade ⁶⁸⁻⁷⁰; por isso, embora os sintomas psiquiátricos se desenvolvam usualmente na segunda ou terceira década de vida, estes podem aparecer antes dos 10 anos de idade e têm sido reportados em 4% a 6% em casos pediátricos com início de DW hepática ^{52,53,63}; no entanto, o comprometimento cognitivo ligeiro como dificuldades na memória de trabalho e linguagem parece ser relativamente frequente ⁷¹; perturbações de humor, para além de serem comuns em adultos, também parecem ser os sintomas psiquiátricos principais em doentes pediátricos ⁵³, dado que cerca de 20% a 60% dos doentes desenvolvem depressão no curso da doença, com um alta taxa de suicídios ^{67,69,72}; a alta frequência de episódios depressivos pode ser facilitada pela reação do doente ao facto de ter uma doença crónica (em jovens adultos), bem como pela incapacidade física provocada pela DW neurológica ^{67,73,74}; para além disto, foram descritas anormalidades na serotonina, especificamente défices serotoninérgicos, o que pode explicar as alterações de humor, nomeadamente a depressão, dado que a serotonina é um neurotransmissor-chave implicado em vários fenótipos cognitivos e comportamentais ^{67,68,75}.

Uma revisão de literatura publicada em 2014 identificou 15 crianças, entre 5 e 18 anos, nas quais um problema psiquiátrico constituiu a apresentação inicial da DW; os consequentes diagnósticos psiquiátricos incluíam psicose, mania, depressão, perturbação de déficit de atenção (ADHD), perturbação obsessiva-compulsiva (OCD), mudanças de personalidade e mau desempenho académico ⁶⁹.

O défice cognitivo nas crianças afeta sobretudo a atenção, aprendizagem e processamento, mas à medida que estas crescem, começará a afetar funções mais complexas como a cognição executiva (tomada de decisões, planeamento, pensamentos flexíveis), a perceção espacial e o raciocínio verbal; estas dificuldades cognitivas podem ser ignoradas e atribuídas à ausência escolar devido às visitas hospitalares, efeitos adversos da terapêutica, entre outros ⁵³. O défice cognitivo foi descrito em aproximadamente 25% dos doentes com DW, principalmente naqueles com sintomas neurológicos; geralmente, estes défices são ligeiros e potencialmente reversíveis, mas podem deteriorar-se durante o progresso da doença ^{67,76}.

4.1.5 Outros Sintomas

4.1.5.1 Sintomas Oftalmológicos

O anel de KF é um dos sinais mais característicos da doença de Wilson, embora não seja patognomónico visto que também é observado ocasionalmente em doentes com colestase de longa duração resultante de outras causas ^{77,78}. Este anel caracteriza-se por uma opacidade cinzenta-castanha ou dourada criada pela deposição de cobre na córnea, mas que não prejudica a visão ^{54,55,78}; este sinal está presente na maioria dos doentes sintomáticos com DW e quase sempre naqueles que apresentam sintomas neurológicos, mas frequentemente ausentes nos casos assintomáticos e entre 40% a 50% dos doentes com doença hepática ^{77,78}. Em crianças jovens e assintomáticas com as enzimas hepáticas anormais, estes anéis são raramente encontrados. Sintusek et al. (2016) observaram que cerca de 66% das crianças estudadas tinham anéis de KF, tendo estas crianças idade superior a 7 anos e sendo sintomáticas na altura da avaliação ^{79,80}; já em adolescentes e jovens adultos, cerca de 50% dos casos tinha anéis de KF juntamente com problemas neurológicos e hepáticos graves ⁸⁰.

4.1.5.2 Sintomas Hematológicos

A hemólise Coombs-negativa pode ser uma manifestação inicial da DW, que pode algumas vezes ser precipitada por infeções ou fármacos, e é proeminente na FHA devida à DW ^{51,52,54}. Embora o exato mecanismo da hemólise seja desconhecido, presume-se que possa ser atribuído ao efeito tóxico direto do excesso de cobre na superfície dos eritrócitos, danificando a membrana celular, oxidando a hemoglobina e inativando várias vias envolvidas na glicólise ⁸¹. Como já foi anteriormente referido, Walshe, numa análise retrospectiva abarcando o período 1955-2000, mostrou que a hemólise foi encontrada em 6,9% dos 321 doentes e que a idade média inicial era de 12,6 anos (variando dos 7 a 20 anos) ⁶.

Para além deste, outros sintomas hematológicos incluem a leucopenia, anemia, trombocitopenia, como consequência do hipersplenismo ⁵⁵, e ainda neutropenia e outras disfunções na coagulação ^{78,82,83}.

4.1.5.3 Sintomas Osteoarticulares

As perturbações osteoarticulares são comuns em doentes com DW e incluem osteopenia, osteoporose, anormalidades esqueléticas e artropatia ⁷⁸. Num estudo,

relativamente à osteopenia e osteoporose ⁸⁴, foram observadas 31 crianças com DW, nas quais 22,6% tinham osteopenia e 67,7% osteoporose. O dano oxidativo mediado pelo cobre ao colagénio pode explicar a artrite que ocorre num pequeno número de doentes, mas também pode ser pela deposição sinovial de cobre ^{51,54}. A apresentação articular em crianças com DW é rara e decorre usualmente na ausência de sintomas hepáticos ou neurológicos típicos, podendo por isso ser confundida com doenças articulares ^{84,85}; foi observado num estudo que 50% dos doentes apresentava artralguas nos joelhos e que 37,5% tinham deformações ósseas nas pernas, sendo que a idade média inicial foi 12 anos ⁸⁴.

4.2 Diagnóstico

O diagnóstico da DW tem sido tradicionalmente baseado na história clínica e avaliação bioquímica. Os anéis de KF, cirrose, complicações neurológicas ou psiquiátricas em várias combinações podem ser usadas para diagnosticar indivíduos com DW, mas isto pode ser difícil quando os doentes apresentam apenas um ou dois dos sintomas clínicos. A avaliação bioquímica com cobre sérico, ceruloplasmina sérica, enzimas hepáticas, excreção urinária de cobre, quantificação de cobre hepático e, se disponível, testes genéticos também são úteis para estabelecer o diagnóstico, mas cada um tem as suas limitações. As imagens, como ressonância magnética cerebral (RMC), podem ser úteis se forem observadas anormalidades nos NB. Como o diagnóstico precoce é essencial para prevenir complicações a longo prazo, vários avanços no diagnóstico por imagem e testes genéticos provaram ser úteis no diagnóstico de DW ⁸⁶.

Deste modo, a abordagem diagnóstica atual é baseada numa pontuação desenvolvida na 8ª Reunião Internacional sobre a DW em Leipzig, que inclui sinais clínicos, estudos histopatológicos, exames bioquímicos, análise genética e imagens por ressonância (Tabela 4). Uma pontuação igual ou superior a 4 pontos é confirmatória da DW, sendo isso já possível se duas mutações no ATP7B forem detetadas. Este sistema, também chamado de pontuação de Ferenci, fornece uma sensibilidade relativamente alta e especificidade para o diagnóstico de DW em crianças ⁸⁷. No entanto, a avaliação clínica e outros testes incluídos na pontuação desenvolvida em Leipzig nem sempre produzem resultados claros e o teste genético não está disponível atualmente em todas as situações ^{88,89}.

Tabela 4 – Sistema de Pontuação de Diagnóstico para a DW (Pontuação de Leipzig/Pontuação de Ferenci) ^{88,89}

Apresentação Clínica e Laboratorial	Pontos
<u>Anéis de KF</u>	
Presente	2
Ausente	0
<u>Sintomas Neurológicos ou Anormalidades típicas da RMC</u>	
Severos	2
Ligeiros	1
Ausentes	0
<u>Ceruloplasmina Sérica (g/L)</u>	
Normal (superior a 0.2)	0
0.1-0.2	1
Inferior a 0.1	2
<u>Anemia hemolítica Coombs-negativa</u>	
Presente	1
Ausente	0
<u>Cobre hepático (na ausência de colestase)</u>	
Superior a 5x o ULN* (superior a 4 µmol/g ou 250 µg/g)	2
0.8-4 µmol/g ou 50-249 µg/g	1
Normal (inferior a 0.8 µmol/g ou 50 µg/g)	-1
Grânulos positivos para rodanina* ²	1
<u>Cobre urinário em 24h (na ausência de hepatite aguda)</u>	
Normal	0
1-2x o ULN*	1
2x o ULN*	2
Normal mas superior a 5x o ULN* depois de tratamento com D-DPA	2
<u>Análise de Mutações</u>	
Mutações detetadas em ambos os cromossomas	4
Mutações detetadas num cromossoma	1
Mutações ausentes	0
Diagnóstico/Pontuação Total	
Diagnóstico estabelecido	4 ou mais
Diagnóstico possível, mais testes necessários	3
Diagnóstico muito improvável	2 ou menos

* limite superior do normal

*² se nenhum cobre hepático quantitativo estiver disponível

4.2.1 Exame Físico

O exame físico baseia-se essencialmente num exame oftalmológico com lâmpada de fenda que pode revelar icterícia da esclerótica e anéis de KF na córnea ⁹⁰, embora estes anéis não sejam específicos da DW, tal como já foi referido neste trabalho ^{77,91}. Adicionalmente, estes anéis estão frequentemente ausentes em crianças assintomáticas ⁵¹. Outras características que se observam neste exame incluem os sintomas neurológicos, como a presença de distúrbios do movimento, dificuldade para falar, espasticidade e rigidez muscular ⁹⁰.

4.2.2 Exames Bioquímicos e Histopatológicos

4.2.2.1 Ceruloplasmina Sérica

Um baixo nível de ceruloplasmina no sangue, inferior a 0,2 g/L ou abaixo de 50% do limite inferior do intervalo normal, pode ser indicativo de DW. No entanto, como a ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda positiva, o seu nível pode aumentar para valores normais na coexistência de doenças inflamatórias e induzir resultados falsos negativos. Além disso, estes valores podem igualmente ser observados em outras doenças hepáticas, em condições que levam à perda de proteína renal ou intestinal, como doenças de má absorção, bem como em portadores heterozigóticos de mutações ATP7B que não apresentam acumulação de cobre no seu corpo ^{88,89}.

4.2.2.2 Cobre Sérico

O cobre sérico total (CST) consiste em cobre incorporado na ceruloplasmina e NCBC. O valor de diagnóstico do CST é pobre, pois não indica concentrações teciduais. Uma vez que 90% do cobre no sangue está ligado à ceruloplasmina, a determinação da sua fração livre, tóxica e de alta suscetibilidade à deposição tecidual seria mais adequada para o diagnóstico de DW; no entanto, as medições desta fração estão relacionadas com a precisão dos testes de cobre sérico e ceruloplasmina e provaram não ser fiáveis.

Em 2009, um novo método para a determinação direta de cobre lábil, chamado de fração permutadora de cobre (CuEXC), foi desenvolvido e avaliado como uma ferramenta de diagnóstico para a DW. A CuEXC fornece dados sobre a sobrecarga de NCBC, bem como sobre a propagação e gravidade da DW. Além disso, o cobre permutador relativo (REC) [$REC = CuEXC / \text{cobre total (\%)}]$] já provou ser um excelente

biomarcador para o diagnóstico de DW com cerca de 85,7% de sensibilidade e 94,1% de especificidade, embora ainda necessite de validação externa, dado que estas ferramentas foram apenas avaliadas em França^{88,89}.

4.2.2.3 Cobre Hepático (Biópsia Hepática)

O método de escolha para o diagnóstico de DW é o exame do conteúdo quantitativo de cobre no parênquima hepático, apesar de este apenas ser indicado quando o quadro clínico e/ou os resultados de exames não invasivos não permitem a confirmação do diagnóstico final da doença e/ou há suspeita de outra doença coexistente no fígado. A concentração de cobre acima de 4 $\mu\text{mol/g}$ ou 250 $\mu\text{g/g}$ de massa seca é o melhor indicador bioquímico de DW, sendo considerado confirmatório da doença. Contudo, devido à distribuição desigual do cobre no parênquima hepático nos estágios avançados da doença, a possibilidade de erro amostral deve ser levada em consideração e, por isso, o conteúdo normal de cobre hepático não exclui o diagnóstico da DW. Além disso, em crianças com mais de 6 meses de idade, um resultado positivo da coloração do tecido hepático para a presença de cobre ocorre quase exclusivamente em doenças hepáticas, como a DW, mas também em doenças colestáticas crônicas, cirrose hepática e tumores hepáticos primários^{88,89}.

4.2.2.4 Cobre Urinário

De um modo geral, a elevada excreção urinária de cobre em 24 h, que normalmente excede 100 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ em adultos (intervalo normal: 0–50 $\mu\text{g}/24\text{ h}$) e 40 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ em crianças com DW, confirma a presença da doença. O teste continua a ser a ferramenta mais sensível no diagnóstico da DW, embora em heterozigóticos assintomáticos às vezes são observados níveis elevados de cobre urinário, mas geralmente não excedem 40 $\mu\text{g}/\text{dia}$; além disso, na FHA, hepatite autoimune e colestase podem ser encontrados resultados falsos positivos.

Em crianças, um teste de provocação com D-DPA foi padronizado para medir a excreção urinária de cobre de 24 h; durante o teste, 500 mg de D-DPA são administrados no início e depois de 12 h após a recolha da urina. Esta metodologia fez aumentar a quantidade de cobre excretado em doentes pediátricos com DW e pôde distinguir a DW de outras doenças hepáticas crônicas, sendo os valores de referência para estes doentes de 1600 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ^{28,88,89}. Após uma reavaliação, verificou-se que este método não era fiável, apresentando uma sensibilidade muito baixa que permitisse

descartar a DW em crianças assintomáticas. Devido à ambiguidade dos resultados obtidos em ensaios clínicos realizados em adultos com DW, o teste também não é recomendado para a população adulta.

Refira-se ainda que a determinação da excreção urinária de cobre é um aspeto importante no controlo do tratamento adequado de doentes com DW ^{88,89}.

4.2.2.5 Anemia Hemolítica Coombs-Negativa

Este tipo de anemia pode ocorrer em até 15% dos indivíduos com DW; parece ser uma descoberta laboratorial específica associada à FHA, devido à DW, e parece estar relacionado ao aumento do *stress* oxidativo induzido pela acumulação de cobre nos glóbulos vermelhos ⁸⁹.

4.2.3 Análise Genética

A análise de mutações deve ser realizada para confirmação do diagnóstico ou para estabelecer o diagnóstico se outros testes forem inconclusivos. Existem mais de 800 mutações no gene ATP7B - principalmente identificadas como heterozigóticos compostos ⁸⁷, e por esta razão, uma falha em confirmar a mutação não exclui a presença da DW, daí que um diagnóstico correto só é usualmente feito após vários meses ⁸⁹. Num doente com diagnóstico clínico claro de DW, a análise de variantes genéticas não é necessária, mas pode fornecer informações para orientar a triagem de parentes. Atualmente, conhecer o *status* da variante não é necessário para a tomada da decisão terapêutica; no entanto, o *status* da variante pode ser necessário com novas tecnologias, como reparação génica ou terapia génica ⁹².

4.2.4 Imagens Radiológicas

Estas imagens devem ser realizadas em todas as pessoas com DW, principalmente nos doentes com sinais e sintomas neurológicos, isto porque estes quase sempre apresentam alterações cerebrais na RMC; por esta razão, a RMC é utilizada para a confirmação da acumulação cerebral de cobre e danos nos NB ^{86,89}. Os resultados de imagens neurológicas em estudos polacos confirmaram anormalidades cerebrais por RMC nos indivíduos com DW neuropsiquiátrica, hepática e pré-sintomática em 90,4%, 41,7% e 25% dos casos, respetivamente ⁸⁹.

Recentemente, uma escala semiquantitativa para anormalidades de RMC foi validada e comprovadamente fiável, bem como um instrumento válido para a avaliação

da gravidade da DW. Além disso, uma técnica relativamente nova chamada mapeamento de suscetibilidade quantitativa (QSM) foi avaliada e reportada como eficaz em indicar alterações de suscetibilidade magnética aumentada nos NB e tronco cerebral em doentes com DW ⁸⁹.

Vários outros novos métodos de imagem têm sido recentemente avaliados para o diagnóstico de DW. Um deles é a análise dinâmica da tomografia por emissão de positrões (PET) com cloreto de cobre-64, que foi avaliada em ratinhos com DW para obter imagens funcionais do desequilíbrio do metabolismo do cobre na DW ^{86,89}. Outro método é a espectroscopia de ressonância magnética (MRS) de tecidos cerebrais que tem sido estudada e avaliada para a detecção de alterações neurológicas precoces relacionadas à DW na população pediátrica ⁸⁹. Este estudo indica que a MRS deteta anormalidades de metabolitos antes que ocorram alterações estruturais cerebrais nas imagens por ressonância magnética, podendo confirmar alterações neurológicas precoces, e é também útil para monitorizar a progressão da doença ^{86,89}.

4.3 Abordagens Terapêuticas

A gestão atual da DW é baseada na indução de um balanço corporal negativo de cobre por meio da diminuição da ingestão na dieta, do bloqueio da absorção ou do aumento da excreção ^{70,86,87,93}. Dois grupos principais de fármacos são usados no tratamento da DW: quelantes de cobre e sais de zinco.

Os fármacos quelantes atualmente em uso são a DPA e a TN, embora historicamente o BAL tenha sido usado. O principal mecanismo de ação dos quelantes é aumentar a excreção urinária de cobre, enquanto o dos SZ é diminuir a absorção do micronutriente no trato digestivo ^{86,93}. O TTM é um novo fármaco usado apenas como tratamento experimental estando atualmente a ser estudado em ensaios clínicos ⁹³. Apresenta um complexo mecanismo de ação, incluindo a diminuição da absorção de cobre no trato digestivo, formação de complexos insolúveis de cobre no plasma e excreção dos complexos na biliar ^{86,93}.

O tratamento deve ser iniciado imediatamente após o diagnóstico em crianças e adultos sintomáticos para prevenir a progressão da doença hepática e/ou neurológica. As crianças pré-sintomáticas diagnosticadas por rastreio familiar devem ser tratadas não mais tarde que os 3 anos de idade ⁸⁷, embora a administração de medicamentos a

crianças muito pequenas seja um desafio ^{87,94}. De momento, não há evidências de alta qualidade para a escolha ideal de tratamento de primeira linha na DW ⁸⁷.

O tratamento na DW é amplamente dividido em fases iniciais e de manutenção, sendo que a presença ou ausência de sintomas clínicos também modula a escolha da terapêutica ⁹⁵. Há 3 diretrizes principais que orientam relativamente ao tratamento da DW, sendo elas a EASL (Associação Europeia para o Estudo do Fígado), a AASLD (Associação Americana para o Estudo de Doenças Hepáticas) e a ESPGHAN (Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica). Há uma concordância geral entre as diretrizes para adultos sobre a abordagem do tratamento, mas algumas diferenças quando comparadas com o meio pediátrico, onde o zinco desempenha um papel mais proeminente. Todas as três diretrizes apoiam a ideia de que o tratamento inicial num doente sintomático deve ser feito com um agente quelante ⁹⁵. A AASLD e a EASL sugerem ainda um quelante numa dose de manutenção ou zinco como opções aceitáveis para a terapêutica de manutenção, bem como para terapêutica de primeira linha em doentes assintomáticos ^{70,95,96}; já a ESPGHAN prefere o zinco em ambos os cenários ^{52,95}.

4.3.1 Dieta

Todas as três diretrizes mencionadas anteriormente apontam para a importância de uma dieta com baixo teor de cobre em conjunto com a abordagem terapêutica, principalmente no primeiro ano de tratamento ^{52,70,95,96}. As diretrizes da ESPGHAN recomendam ainda a manutenção de uma dieta pobre em cobre em combinação com a terapia quelante até à remissão dos sintomas e normalização das enzimas hepáticas. No entanto, eles especificam exclusivamente que não há necessidade de uma restrição alimentar se o doente estiver a fazer terapêutica com zinco. Isto pode ser problemático se o tratamento com zinco não for consistente ou se a quantidade de cobre ingerida for relativamente alta ^{52,95}.

Uma terapia com uma dieta pobre em cobre é ineficiente porque é muito difícil atingir um balanço negativo de cobre, já que quase todos os alimentos contêm vestígios de cobre para serem absorvidos através da proteína Ctr1. No entanto, para apoiar a terapêutica medicamentosa, recomenda-se evitar alimentos ricos em cobre como cacau, chocolate amargo, nozes, passas, mariscos, ostras, órgãos internos como fígado e rins, suplementos alimentares como espirulina e cogumelos shitake ^{86,97}.

4.3.2 Agentes Quelantes de Cobre

4.3.2.1 D-Penicilamina

A DPA (Figura 8) foi o primeiro agente quelante de cobre oral usado para o tratamento da DW ^{55,86} e é a terapêutica de primeira linha no tratamento da DW ⁹⁸. Para além do mecanismo de ação já referido, a DPA também induz a metalotioneína hepática endógena, uma proteína citosólica de ligação ao metal, que sequestra o cobre e previne, desta forma, o fígado dos seus efeitos tóxicos ^{52,86,87,93,98}.

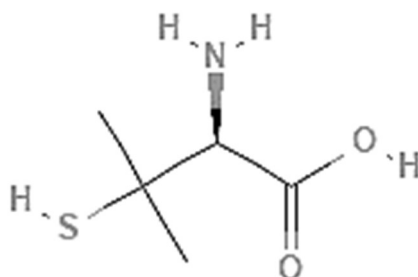


Figura 8 – Estrutura química da D-penicilamina ⁹⁹

A DPA melhorou os sintomas hepáticos em mais de 80% das crianças sintomáticas num tempo médio de 16 meses, incluindo aquelas que apresentavam insuficiência hepática, mas sem encefalopatia hepática ^{52,87}. Também os parâmetros laboratoriais como o NCBC, as transaminases e a excreção urinária voltam aos seus valores normais após o tempo referido, sendo esta última determinada por recolha de urina depois de 3 dias de uma interrupção do quelante ⁵⁵. Deste modo, a DPA demonstrou prevenir eficientemente a progressão da doença em crianças com DW ⁸⁷.

Relativamente aos efeitos adversos, eles podem ocorrer durante o tratamento com DPA, causando uma taxa relativamente alta de intolerância (mais de 30%) ao longo do tempo ^{52,55,70,86,98}. Estas reações adversas são geralmente divididas em dois grupos: reações precoces e tardias; as precoces ocorrem durante as primeiras 3 semanas de tratamento com DPA como reações de hipersensibilidade com febre, erupções cutâneas, linfadenopatia, neutropenia, trombocitopenia e proteinúria (como marcador de doença renal devido à DPA) ^{52,87,93}. No caso de ocorrerem estas reações agudas, o tratamento com DPA deve ser descontinuado imediatamente e deve ser iniciado outro tratamento farmacológico, como TN ou SZ ^{52,55,70,93}. As reações tardias podem ocorrer entre as 3 semanas até anos após o tratamento com DPA e traduzem-se em nefrotoxicidade, sintomas dermatológicos, estomatite aftosa e ulcerações da mucosa oral, síndrome tipo

lúpus, anemia aplástica, entre outros ^{52,87,93}; se as manifestações forem apenas dermatológicas a DPA pode ser continuada concomitantemente com corticoesteróides ⁹⁸.

As crianças, no entanto, parecem tolerar o fármaco melhor do que os adultos. Num estudo abarcando 74 crianças do Reino Unido, a incidência relatada de efeitos adversos foi de 38% e, em 16%, o agente quelante teve que ser trocado para a TN. Também Manolaki et al., num estudo onde participaram 54 crianças, relataram uma incidência semelhante de reações adversas de 16%, onde o tratamento inicial com DPA teve que ser descontinuado por causa das mesmas ⁹⁸.

Em alguns doentes observa-se um agravamento inicial dos sintomas neurológicos, especialmente em doentes com envolvimento neurológico no início do tratamento ou naqueles tratados com antagonistas do recetor de dopamina (maioritariamente antipsicóticos), mas a fisiopatologia permanece incerta ^{55,86,87,93,98}. Uma hipótese afirma que a introdução muito rápida de DPA leva a uma mobilização abrupta de NCBC dos tecidos que provoca um aumento transitório de NCBC tóxico no soro e no líquido cefalorraquidiano; o NCBC induz *stress* oxidativo, que pode danificar ainda mais o tecido cerebral e causar uma deterioração neurológica mais grave ⁹³. Por esta razão, a dosagem deve ser iniciada lentamente com a dose mais baixa possível, por exemplo 125 mg por dia ou 250 mg em dias alternados ^{93,98}. Não há um protocolo definido relativamente à taxa de escalonamento da dose. Enquanto alguns centros aumentam 250 mg a cada 2 a 3 semanas, outros fazem-no mensalmente, até atingir o máximo, entre 20 mg/kg/dia (1000 a 1500 mg/dia no caso de adultos) em 2 ou 3 doses divididas ^{55,87,93,98}, sendo estas dosagem e doses iguais nas crianças ^{52,93,98}. Este aumento gradual deve ser feito sob monitorização clínica e bioquímica, isto porque uma readministração rápida do medicamento em doentes que interromperam a terapia por um longo período pode levar a alterações neurológicas irreversíveis ⁹⁸. Após atingir a remissão a terapia deve ser mantida ao longo da vida nas doses mais baixas possíveis, nomeadamente entre 600 a 900 mg/dia ⁵⁵.

Como a DPA interage com metais pesados, a ingestão de sais de ferro ou de antiácidos, se necessário durante o tratamento, deve ocorrer dentro dos intervalos de 2 horas entre as doses de DPA, de modo a não reduzir significativamente a absorção do agente quelante ^{93,98}. Para além disso, a alimentação reduz a absorção do quelante em

50%, portanto, o doente deve tomar o fármaco 1 h antes ou 2 h após as refeições ^{52,98}. A DPA interfere também no metabolismo da piridoxina (agindo como antagonista da piridoxina e aumentando a excreção urinária da mesma) e, por isso, recomenda-se a suplementação com vitamina B6 (25 a 50 mg/dia) durante o tratamento com DPA, isoladamente ou com outras vitaminas ^{70,93}, principalmente em crianças, mulheres grávidas, indivíduos desnutridos e doentes com co-morbilidades ⁹³.

4.3.2.2 Trientina

A TN (Figura 9) foi originalmente introduzida como agente quelante de segunda linha em doentes com DW que desenvolveram intolerância à DPA ^{52,55,86,87}.

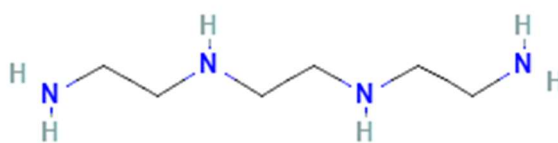


Figura 9 – Estrutura química da trientina ¹⁰⁰

A TN parece ter efeitos adversos menos frequentes do que a DPA e é igualmente eficaz, mas a TN apresentou também um risco similarmente grande, senão maior (20%), de deterioração neurológica em doentes com manifestações neurológicas da DW, razão pela qual este fármaco tenha igualmente que ser introduzido gradualmente ^{55,86,87,93,98}. Num estudo pediátrico, a TN, usada como terapêutica de segunda linha após intolerância à DPA, melhorou a função hepática, mas não aliviou os sintomas neurológicos ou psiquiátricos associados ^{52,87}.

Num estudo realizado por Weiss et al. (2013), comparando a segurança e a eficácia da DPA e da TN, as reações adversas que levam à descontinuação do tratamento da TN ocorrem com frequência quatro vezes menos do que com a DPA ^{93,101}. Os efeitos adversos mais comuns durante o tratamento da TN são a anemia sideroblástica ^{87,93}, reações semelhantes a lúpus, gastrite hemorrágica, perda do paladar e erupções cutâneas ⁹³. Embora esta tenha sido tradicionalmente usada para doentes intolerantes à DPA, estudos recentes sugerem que ela pode ser usada como terapêutica de primeira linha, embora isto ainda tenha que ser estudado mais detalhadamente, dado que não há estudos diretos que comparem a superioridade relativa de uma sobre a outra ^{52,93,98}.

Existem duas formas de TN disponíveis: TN 2HCl (dicloridrato de trientina) (Figura 10) e TN 4HCl (tetracloridrato de trientina) (Figura 11), estando esta última disponível no mercado desde 2018 ^{55,87} e proporcionando uma absorção mais rápida e uma maior exposição sistêmica em indivíduos saudáveis ¹⁰². Para a TN 2HCl a dose inicial é de 750–1500 mg/dia em 2 a 4 doses divididas ^{87,93,98}, enquanto para a TN 4HCl a dose inicial é: 225–450 mg/dia em 2 a 4 doses divididas ⁸⁷ e, como terapia de manutenção, as doses frequentemente administradas são entre 600 a 1000 mg/dia ^{55,93}. Para as crianças, a dose de TN é de 20 mg/kg/dia administrada em 2 a 3 doses ^{52,87,93,98}.

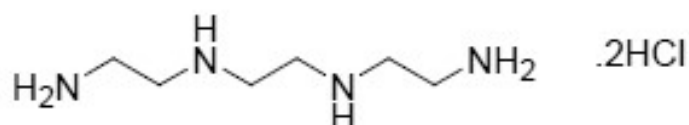


Figura 10 – Estrutura química do dicloridrato de trientina ¹⁰³

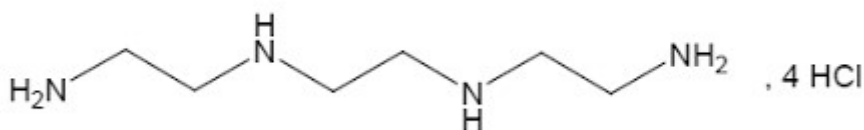


Figura 11 – Estrutura química do tetracloridrato de trientina ¹⁰⁴

A baixa adesão ao uso de medicamentos geralmente é uma barreira significativa para a gestão otimizada da DW; desta forma, a possível eficácia de uma dose diária de TN como terapêutica de manutenção para a DW tem sido sugerida por alguns estudos mantendo-se atualmente em análise ^{86,105}. Num pequeno estudo foi observado que a dose única diária de TN realmente melhorou a adesão dos doentes ao tratamento e foi mais conveniente devido à necessidade de separar a medicação da alimentação; foi demonstrada também a estabilidade do seu estado bioquímico e uma boa excreção de cobre ¹⁰⁵. Contudo, ensaios de maior dimensão com maior duração de acompanhamento e teste de resposta à dose para o tratamento serão necessários para abordar as questões de segurança, eficácia a longo prazo e custo-benefício do tratamento com dose única de TN como terapêutica de manutenção na DW ⁸⁶.

Durante a terapêutica, os doentes devem evitar a suplementação concomitante de ferro, pois a TN complexa o ferro e outros metais pesados e, portanto, devem ser

monitorizados quanto à deficiência de ferro ^{52,87,93,98}. Os comprimidos devem ser administrados 1 h antes ou 2 a 3 h após as refeições para uma absorção ideal. O TN 2HCl é sensível ao calor e deve ser armazenado em recipientes hermeticamente fechados a uma temperatura entre 2 e 8 °C ^{52,87,98}, enquanto o TN 4HCl pode ser armazenado à temperatura ambiente ¹⁰⁶.

4.3.3 Sais de Zinco

A AASLD e a ESPGHAN especificam um papel potencial para a terapêutica combinada com zinco no cenário de cirrose descompensada e a EASL também propõe um papel para o zinco mas como escolha inicial em doentes neurológicos ^{52,70,95,96}.

O modo de ação dos SZ é através da indução da metalotioneína em enterócitos; o cobre absorvido no intestino delgado é assim sequestrado nos mesmos que, no final do seu ciclo de vida, transportam cobre para o lúmen, sendo depois excretados pelas fezes ^{51,53,86,87,93,98}. O zinco também induz a metalotioneína dos hepatócitos e, por isso, também tem um efeito destoxicificante do cobre ^{87,93,98}.

A maioria dos estudos avaliando a eficácia clínica dos SZ, quando aplicado como monoterapia de primeira linha nas várias apresentações clínicas da DW, mostrou um perfil de tolerância melhor do que a DPA e que poderia ser usado com segurança para o tratamento de crianças pré-sintomáticas ^{87,107–109}. Para além do tratamento de crianças muito pequenas, os SZ ganharam popularidade relativamente ao tratamento de doentes assintomáticos, sintomáticos que experienciaram reações adversas com a terapia quelante ⁸⁶, como primeira linha para pré-sintomáticos e também para a fase de manutenção após o tratamento inicial com um quelante ^{53,87,93,98}.

No entanto, a falha da monoterapia com zinco foi relatada em crianças sintomáticas apresentando doença hepática ^{87,110} e, por isso, a eficácia da mesma em doentes deste tipo está ainda em debate ⁸⁷. Isto acontece porque são necessárias quase 3 semanas para induzir a síntese adequada de metalotioneína e, por isso, alguns médicos afirmam que os SZ não devem ser usados como terapia inicial em casos hepáticos graves de DW, cuja quelação rápida de cobre é necessária ^{93,98}. O início da terapia com SZ também apresenta um risco de deterioração neurológica, como observado nas outras modalidades de tratamento, mas menos frequente do que com a DPA ⁸⁷, daí que a EASL

propõe os SZ como primeira linha na DW com sintomas neurológicos, para a qual já são utilizados ^{52,53,70,95,96,98}.

Existem diferentes formulações de SZ disponíveis: sulfato de zinco (Figura 12), acetato de zinco (Figura 13) e gluconato de zinco (Figura 14) ^{51,70,87,93,110}. Estudos iniciais favoreciam o acetato de zinco porque havia a percepção de que os outros SZ não seriam tão bem absorvidos ou eficazes ⁸⁶, mas Camarata et al. concluíram que tanto a absorção como a eficácia eram semelhantes entre os diferentes sais ^{86,111}. Problemas gastrointestinais, como náuseas, vômitos, dor epigástrica, ulceração da mucosa gástrica/duodenal ou erosão, foram relatados ^{51,70,87,93,110,112}, principalmente com sulfato de zinco, e podem alterar particularmente a qualidade de vida (QV) da criança e levar a uma baixa adesão à terapêutica ^{87,110,112}. No entanto, os sintomas gastrointestinais podem desaparecer ao mudar a formulação de sulfato de zinco para, por exemplo, acetato de zinco, que é mais tolerável ^{87,98}. Outros efeitos adversos como anemia ferropénica e aumento das enzimas pancreáticas (amilase e lipase), porque são enzimas que contêm zinco, mas sem características clínicas de pancreatite, também podem ser observadas ^{70,87,93}. A dosagem recomendada dos SZ é de 25 mg 2 vezes por dia em crianças com menos de 5 anos de idade, 75 mg/dia (se o peso corporal for inferior a 50 kg) ou 150 mg/dia (se o peso corporal for superior a 50 kg) em 3 doses divididas em crianças com mais de 5 anos de idade e adultos ^{55,87,93,96,98,109}. As múltiplas doses diárias também dão origem a uma baixa adesão à terapêutica, principalmente por terem de ser administradas fora das refeições ⁸⁶.

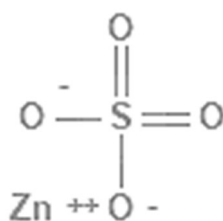


Figura 12 – Estrutura química do sulfato de zinco ¹¹³

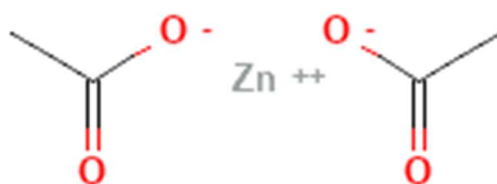


Figura 13 – Estrutura química do acetato de zinco ¹¹⁴

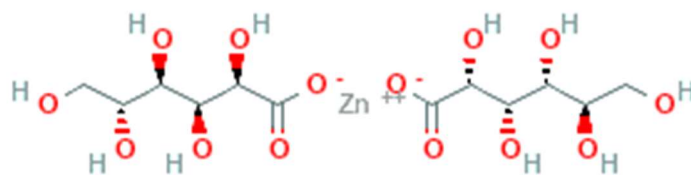


Figura 14 – Estrutura química do gluconato de zinco ¹¹⁵

Os SZ não devem ser ingeridos com alimentos porque interferem com a sua absorção, devendo ser administrados 1 h antes ou 2 h depois das refeições ^{51,52,55,87,93,98}, e a restrição dietética de cobre não é recomendada porque o zinco bloqueia a absorção de cobre no trato gastrointestinal ⁵²; uma dieta vegana também não é vantajosa tendo em conta que existem muitos alimentos contendo fitatos (maioritariamente vegetais), o que diminui a absorção de zinco ^{55,93}. Para além disto, os sais de ferro, bem como agentes quelantes, diminuem também a absorção de zinco e, por isso, devem igualmente ser administrados com um intervalo de pelo menos 2 h. Os SZ diminuem ainda a absorção de alguns antibióticos, incluindo tetraciclina e quinolonas; os fármacos diuréticos, principalmente os tiazídicos, aumentam a excreção urinária de zinco ⁹³.

4.3.4 Tetratiomolibdato de Amónio

As diretrizes da AASLD e da EASL mencionam um papel emergente para o TTM (Figura 15) ^{70,95,96}. É um novo fármaco que está a ser estudado no tratamento da DW apresentando doença neurológica aguda ^{53,55,86}, uma vez que a terapia quelante convencional pode levar à deterioração clínica rápida e irreversível ⁵³, e porque esta deterioração até agora não foi encontrada com este fármaco. No entanto, permanece em investigação, pois os regimes de tratamento estão a ser otimizados e ainda não estão disponíveis relativamente à DW na pediatria ⁵¹. Embora ainda não tenha sido aprovado pela American Food and Drug Association (FDA), está aprovado na Europa desde 2008 para utilização na DW como medicamento órfão ^{41,116} porque, apesar da reduzida experiência clínica disponível, parece que este agente é seguro e eficaz, especialmente em doentes com manifestações neurológicas graves ⁴¹.

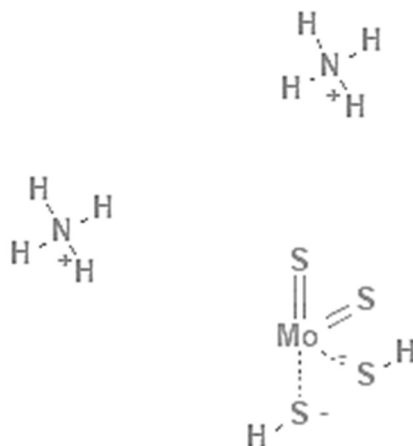


Figura 15 – Estrutura química do tetratiomolibdato de amônio ¹¹⁷

O TTM tem múltiplos mecanismos de ação: interfere na absorção de cobre do intestino quando administrado com alimentos, liga-se ao cobre plasmático através da formação de um complexo tripartido estável com albumina quando administrado entre as refeições e também desempenha um papel na remoção de cobre de metalotioneínas em tecidos, incluindo hepatócitos, com o resultante aumento na excreção biliar de cobre ^{41,51,53,55,86}. Ao contrário dos quelantes convencionais, o TTM pode atravessar a barreira hematoencefálica para a consequente captação nas células neuronais ^{53,55}.

O TTM usado inicialmente para o tratamento da DW não era estável e, portanto, era difícil de armazenar ou usar clinicamente ⁸⁶. Os ensaios clínicos atuais estão assim a usar um novo composto, mais estável e com melhor biodisponibilidade, chamado tetratiomolibdato de bis-colina (ALXN1840) (Figura 16) ⁸⁶. Os estudos de fase I e II estão completos e a fase III está em andamento ⁸⁶; os resultados da fase II foram promissores, demonstrando um perfil de segurança favorável, de um modo geral; apesar de 1 em cada 3 doentes terem apresentado elevações nas transaminases logo após o início da terapêutica com ALXN1840 ^{55,86}, estas resolveram-se com a redução da dose ou interrompendo o tratamento ⁸⁶. A este propósito refere-se que em estudos anteriores utilizando o sal de TTM, o aumento das transaminases foram também reportados e acompanhados de relatos de síndromes aplásticas ⁵⁵. A longo prazo, durante a extensão além dos 6 meses iniciais, a função hepática estável manteve-se, mesmo nos doentes com cirrose. Adicionalmente foi demonstrada uma redução do NCBC para dentro dos intervalos normais entre 8-12 semanas após o início do tratamento, tendo por isso a maioria do doentes uma melhoria dos sintomas neurológicos ⁸⁶. Para além de o

ALXN1840 não provocar uma deterioração neurológica, ele tem a vantagem de ser administrado apenas uma vez por dia, mas com a desvantagem de ter que ser armazenado no frigorífico (entre 2-8 °C) ⁸⁷.

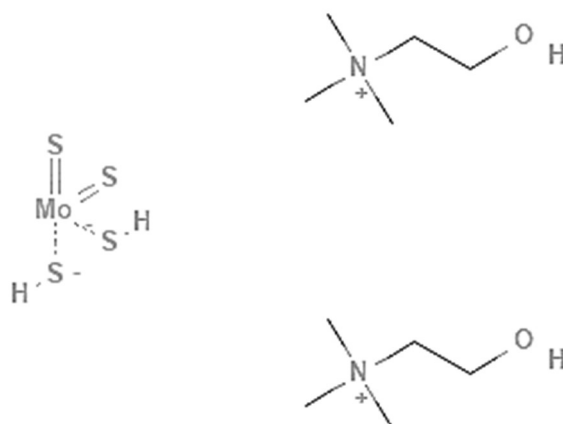


Figura 16 – Estrutura química do ALXN1840 ¹¹⁸

O atual estudo de fase III está a recrutar doentes com DW sem tratamento prévio e também aqueles em terapia de manutenção (maiores de 18 anos) para avaliar a eficácia e segurança do ALXN1840 ^{53,86}.

4.3.5 Transplantação Hepática

Todas as três diretrizes defendem a posição de que as indicações para transplante hepático (LTx) na DW incluem FHA e cirrose descompensada (não respondendo à terapêutica), e que a DW com sintomas neurológicos não constitui uma indicação primária para transplante ^{87,95}. A ESPGHAN chega a afirmar que a doença neuropsiquiátrica grave representa uma contraindicação ao transplante, provavelmente reflexo da sua irreversibilidade e do seu potencial impacto na adesão a longo prazo ⁹⁵.

Na FHA, o transplante de fígado é a primeira escolha de terapia; tem uma elevada taxa de sucesso ^{55,87} e também tem como vantagens curar a doença hepática ^{53,55,86}, restaurando a excreção biliar de cobre e fazendo desaparecer os anéis de KF com o tempo, e, assim, os doentes não necessitarem de terapêutica de manutenção ^{53,55}. Ainda assim, tem as desvantagens de ter uma taxa de mortalidade de 10 a 20% no primeiro ano após o transplante, o que é muito alta para recomendar este procedimento para a população geral com DW, principalmente porque estão disponíveis boas opções de terapia farmacológica e de haver a necessidade de imunossupressão a longo prazo ^{55,86}.

Outra questão que se coloca prende-se com a hipótese de os sintomas neurológicos também poderem vir, ou não, a desaparecer devido à normalização da ceruloplasmina no sangue. De facto, as observações de melhoria neurológica após o transplante de fígado são ambíguas e, por isso, ainda é discutível se o LTx é indicado para DW com sintomas neurológicos progressivos sem insuficiência hepática ^{53,55}. Embora ainda seja altamente controverso em doentes com sintomas neuropsiquiátricos graves, há evidências crescentes de que doentes com sintomas neurológicos predominantes, mas com função hepática estável, podem estabilizar ou até melhorar após o LTx e, portanto, devem ser considerados para LTx preventivo.

Os doentes que são heterozigóticos também conseguem doar, expandindo assim o *pool* de doadores, isto porque, embora um terço dos doentes tenha níveis séricos anormais de cobre e ceruloplasmina, estes não desenvolverão doença hepática. Os recetores destes transplantes têm uma excelente taxa de sobrevivência e melhoria no metabolismo do cobre sem recorrência da DW ⁵³.

Um estudo analisando o banco de dados da *United Network for Organ Sharing*, incluiu 170 crianças com DW (submetidas a LTx entre 1987 e 2008) e demonstrou uma sobrevida em 1 e 5 anos de 90,1% e 89%, respetivamente ⁸⁷. Desta forma, o LTx parece oferecer um tratamento promissor em doentes pediátricos com FHA ou cirrose descompensada secundária à DW ¹¹⁹. O acompanhamento próximo e a monitorização do estado clínico são vitais para listar atempadamente uma criança para LTx. Em 2005 foi proposto um sistema de pontuação na população pediátrica por Dhawan et al. [índice King's College Wilson (WI)] que é relatado como 93% sensível, 98% específico, com valor preditivo positivo de 93% e deve ser aplicado para avaliação prognóstica e decisão de transplante hepático nessas crianças ^{51,87}.

4.4 Prognóstico e Qualidade de Vida

Antes do desenvolvimento de terapêuticas farmacológicas, a DW era inevitavelmente uma doença fatal. O diagnóstico precoce é importante e demonstrou estar associado à redução da mortalidade e necessidade de transplante de fígado, e a expectativa de vida atualmente é estimada como próxima à da população geral (desde que a doença seja diagnosticada atempadamente e corretamente tratada); além disso, a QV relacionada com a saúde em doentes tratados com DW é semelhante à da população

geral ^{87,120}. Por outro lado, o prognóstico é muito bom na maioria dos casos pediátricos ⁸⁷. No entanto, a adesão é um fator importante para o prognóstico, havendo relatos de mortes em doentes que se encontravam previamente bem controlados com medicamentos, e que depois se tornaram não aderentes ¹²⁰.

Em relação à reversibilidade dos sintomas, a maioria das evidências sugere que os sintomas neurológicos e hepáticos melhoram com a terapia apropriada na maioria dos doentes, embora a distonia possa ser o menos provável dos sintomas neurológicos para responder ao tratamento; os sintomas psiquiátricos também devem melhorar com o tratamento quelante, embora possa haver uma estagnação na resposta após 2 anos do tratamento. Apesar da resposta favorável ao tratamento na maioria dos doentes, também há relatos de doentes que morreram apesar do diagnóstico e tratamento precoces, para além do facto de existir o conceito de que alguns doentes não respondem convencionalmente aos agentes redutores de cobre ¹²⁰.

Um índice prognóstico, o *score* de King revisado, foi desenvolvido usando uma combinação de parâmetros bioquímicos (bilirrubina, aspartato aminotransferase, razão normalizada internacional, contagem de glóbulos brancos e albumina) para avaliar a mortalidade na insuficiência hepática por DW. A EASL e a ESPGHAN recomendam formalmente o seu uso para orientar a necessidade de listagem de transplantes (pontuação igual ou superior a 11) ⁹⁵.

Relativamente à QV, esta tem sido pior nos doentes com sintomas neuropsiquiátricos do que naqueles com apenas sintomas hepáticos, tanto nos doentes adultos como em crianças, por possivelmente as doenças neurológicas não serem agressivas, mas serem mais debilitantes; desta forma, o doente pode ter uma expectativa de vida maior, mas com incapacidades que afetam a QV, principalmente se coexistem sintomas psiquiátricos. Constatou-se que nas crianças o funcionamento psicológico foi mais afetado do que o funcionamento físico pela DW; isto pode ser resultado do absenteísmo frequente na escola e nas brincadeiras, que constitui a parte predominante da vida de uma criança. Não existem estudos específicos sobre a QV de crianças com DW, sabendo-se, contudo, que as crianças com doenças crónicas têm uma QV inferior ¹²¹.

5 Desafios

Um dos desafios está presente na genética da DW. Apesar da genética desta doença ter sido elucidada, esta não consegue prever a variabilidade fenotípica da DW¹²², isto porque, como a maioria dos doentes são heterozigóticos, o número de permutações é enorme e torna as correlações genótipo-fenótipo extremamente difíceis². Este conceito é apoiado por vários estudos que mostram uma falta de correlação entre genótipo e fenótipo¹²². Um estudo recente e amplo com um total de 1357 doentes com DW tentou identificar uma associação entre genótipo e fenótipo; no entanto, os autores não puderam mostrar evidências de que o fenótipo pudesse ser previsto com base no genótipo^{122,123}. Deste modo, é provável que fatores epigenéticos e metabólicos também contribuam para os diferentes fenótipos de DW.

Uma grande dificuldade adicional na compreensão da DW é a falta de acesso a uma larga escala e interpretação da análise genética. As modalidades de testes genéticos para a DW incluem a deteção por reação em cadeia da polimerase de mutações pontuais comuns, o sequenciamento completo do genoma, entre outras, mas muitas destas ferramentas podem não estar amplamente disponíveis fora dos grandes centros académicos. Outro obstáculo também pode ser a necessidade de ter estes dados interpretados por um geneticista.

O diagnóstico de DW também é desafiante tendo em conta que depende de uma combinação de achados clínicos, bioquímicos, histológicos e genéticos e que os testes diagnósticos atualmente disponíveis muitas vezes não conseguem detetar a doença devido à baixa sensibilidade e especificidade dos mesmos. Para além disso, como a apresentação clínica da DW é variada entre os afetados e nem todos os que têm mutações no gene ATP7B apresentam as manifestações clínicas, o processo diagnóstico é muitas vezes árduo; e, embora, a pontuação de Leipzig tenha sido desenvolvida para auxiliar na determinação do diagnóstico de DW e seja recomendado pelas diretrizes europeias, ela carece de validação em larga escala¹²². O diagnóstico da DW no contexto de FHA pode ser bastante moroso uma vez que a ceruloplasmina e o cobre urinário podem estar falsamente elevados noutras condições e, como há um mau prognóstico em doentes que apresentam FHA sem LTx, o diagnóstico precoce seria de extrema importância¹²⁴. Por isso, e neste contexto, o REC mostra-se valioso¹²⁵ dado que se

trata de uma ferramenta não invasiva, altamente sensível e específica para a DW ¹²². Contudo, o teste não está amplamente disponível fora da França ¹²⁴, tendo uma disponibilidade limitada em alguns laboratórios, como os franceses, onde os dados são escassos.

Um aspeto importante da patogénese da DW é o comprometimento da morfologia e função mitocondrial, que foi descrito no início da progressão da doença. Estudos em animais indicam que a remoção de cobre das mitocôndrias resulta na melhoria da disfunção mitocondrial e patologia hepática. Um obstáculo tanto no tratamento quanto na monitorização da DW é que faltam agentes que atuem especificamente nas mitocôndrias, bem como ferramentas para monitorizar a melhoria bioenergética das mitocôndrias durante o tratamento ¹²².

A terapia também está longe de ser ideal: a terapêutica com BAL ainda é usada apenas para doentes severamente distónicos, mas apresenta muitas reações adversas e a sua administração causa transtorno ao doente; a DPA é eficaz em muitos casos, mas também tem muitos efeitos adversos, principalmente de natureza imunogénica e, numa pequena percentagem de doentes, pode induzir uma deterioração neurológica súbita e imprevisível; a TN tem menos efeitos desagradáveis e é uma alternativa muito útil, mas, como todas as formas de tratamento, está associada ao agravamento inicial dos sintomas; os SZ são eficazes no bloqueio da absorção de cobre no intestino, mas têm uma ação muito lenta, sendo provavelmente mais úteis como terapêutica de manutenção do que como inicial, para além de que muitos SZ são irritantes gástricos e possivelmente contraindicados em doentes com varizes esofágicas proeminentes; o TTM é mais uma alternativa, mas encontra-se ainda em fase de estudo e avaliação não estando comercializado ²; com estes tratamentos os doentes devem permanecer em terapia de manutenção por toda a vida, o que é também um desafio devido aos potenciais efeitos adversos dos fármacos, interações medicamentosas e restrições financeiras ¹²²; finalmente, refere-se o LTx, que permite curar a DW, mas que condena o doente a uma imunossupressão a longo prazo com todas as suas possíveis complicações ².

A adesão à terapêutica pode ser pobre na pediatria, dado que é uma responsabilidade que se impõe ao doente de seguir o regime terapêutico numa idade jovem. Assim, a educação do doente sobre a doença, suas complicações e a segurança da terapêutica são questões muito importantes ⁸⁷.

6 Perspetivas Futuras

As opções atuais de tratamento para a DW, baseadas em medicamentos que levam ao equilíbrio corporal negativo de cobre, como quelantes ou SZ, foram introduzidas há mais de 40 anos e geralmente são eficazes na maioria dos casos da doença, se usadas ao longo da vida. No entanto, especialmente em doentes com sintomatologia neurológica, o tratamento pode levar à deterioração neurológica, que muitas vezes é irreversível. Além disso, quase 50% destes doentes apresentam déficits neurológicos persistentes, apesar do tratamento. Por fim, quase 25% dos doentes não aderem à terapêutica, em parte devido aos efeitos adversos e também aos regimes posológicos complexos. Estas limitações com os tratamentos atuais levaram à busca de outras possibilidades de tratamento da DW ¹²⁶.

A maioria das ideias para futuras terapias de DW baseia-se em: 1) propriedades quelantes de cobre de alguns fármacos (DMP-1001; glicopéptido contendo tióis; metanobactina); 2) atividade complexa com aumento da remoção de cobre com sais biliares, bem como diminuição da absorção de cobre no trato digestivo (TTM); 3) promoção da atividade ATP7B (4-fenilbutirato, curcumina), propriedades antioxidantes com prevenção da toxicidade do cobre (curcumina, OSIP108) ⁸⁷ ou 4) restauração do metabolismo normal do cobre através da restauração da função hepática por transplante de hepatócitos saudáveis (terapia celular) ou restauração da função normal de ATP7B (terapia génica), sendo estas últimas terapias estratégias curativas emergentes ^{53,87,124}. No entanto, a maioria destes estudos está a ser atualmente realizada apenas em animais (Tabela 5) ⁸⁷.

Tabela 5 – Opções de tratamento a ser testadas atualmente para a DW ⁸⁷

Opção de tratamento	Modo de ação	Estado atual
TTM/ALXN1840	Promove a excreção biliar de cobre Estabiliza o cobre circulante	Estudo em fase III – estudo FOCUS em progresso
TN (2HCl) de toma única diária	Quelante	Publicado (estudo universitário não comercial baseado em 8 doentes)
Metanobactina	Quelante com propriedades protetoras da mitocôndria	Estudos animais
DMP-1001	Quelante com alta afinidade ao cobre e capacidade de atravessar a BHE	Modelos animais
TN (2HCl) com um sistema de vetorização para o SNC por lipossomas de superfície modificada	Quelante com capacidade de atravessar a BHE	Estudos animais
OSIP108	Previne a apoptose e toxicidade induzida pelo cobre	Estudos animais
4-fenilbutirato	Chaperão molecular – promove reparação celular e aumenta a expressão da ATP7B	Estudos animais
Glicopéptido que contém tióis	Quelante com alta afinidade ao cobre	Estudos animais
Terapia celular	Substitui a função hepática através da transplantação de hepatócitos saudáveis	Estudos animais
Terapia génica	Restaura a função normal da ATP7B nos hepatócitos	Publicado em estudos animais Atualmente 2 estudos de fase I/II – VTX801 e UX701

A metanobactina é um peptídeo produzido por uma bactéria denominada *Methylosinus trichosporium* com uma potente afinidade pelo cobre. Esta substância, quando se encontra dentro dos hepatócitos, remove o cobre tóxico das células e previne a lesão mitocondrial. O tratamento com metanobactina reverteu a disfunção mitocondrial e a lesão hepática em modelos animais de DW na fase aguda da toxicidade do cobre ^{86,127}. Um curto curso de tratamento com metanobactina mostrou remover efetivamente o excesso de cobre no fígado num modelo de rato com DW, um efeito que

foi sustentado por várias semanas após a interrupção do tratamento ^{86,128}. A alta afinidade da metanobactina pelo cobre e sua rápida ação na remoção do cobre dos hepatócitos em modelos animais sugere uma possível aplicação no tratamento de casos agudos de DW, sendo no entanto necessários mais estudos e ensaios clínicos ⁸⁶.

No que concerne à terapia celular, o transplante de uma quantidade adequada de hepatócitos saudáveis pode restaurar a atividade da ATP7B até um nível adequado para um metabolismo normal do cobre. Num modelo de rato com DW, o transplante de hepatócitos normais mostrou estar associado à prevenção de hepatite fulminante, diminuição da inflamação e aumento da sobrevivência a curto prazo, embora possam ser necessários ciclos repetidos de transplantes celulares para alcançar uma melhoria clínica adequada; no entanto, ainda não há relatos de ensaios humanos. Potenciais limitações com esta abordagem incluem a necessidade de transplante de uma grande quantidade de células, a exigência de imunossupressão a longo prazo e diferenças no sucesso da implantação se já houver doença no fígado que altere a microcirculação hepática ^{53,86}.

A terapia de reposição gênica teoricamente pode fornecer uma cura potencial para defeitos genéticos. A DW poderia ser tratada com terapia gênica se a expressão transgênica suficiente de ATP7B nos hepatócitos pudesse ser mantida ao longo do tempo. A transferência de genes lentivirais que integram o gene ATP7B no genoma mostrou ser eficaz para melhorar a progressão da doença em modelos animais de DW; contudo, há preocupações de que o uso de tais técnicas possa causar oncogênese.

O vírus adeno-associado (AAV) é um vetor alternativo para terapia gênica que está a ganhar popularidade devido à sua capacidade de transferência direta de genes extracromossômicos para os hepatócitos ⁸⁶. Usando um AAV que codifica DNA complementar de ATP7B humano (cDNA) nos hepatócitos de ratinhos *Atp7b*^{-/-} DW, a expressão adequada de ATP7B foi alcançada para reduzir o cobre hepático e prevenir lesão hepática; no entanto, o grande tamanho do cDNA ATP7B afetou a capacidade de clonagem do vetor para a produção de transferência gênica eficiente ^{86,129}. Para superar essa limitação, foi gerado um vetor de codificação mais curto para uma proteína miniATP7B que foi eficaz na obtenção de homeostasia de cobre a longo prazo neste modelo de ratinho de DW ^{86,130}. Com base nestes estudos, está a ser planeada esta transferência do gene AAV mas para a correção genética da DW em humanos. Os

problemas a serem superados nesta terapia incluem o potencial de uso de anticorpos neutralizantes em alguns doentes que possuem anticorpos pré-existentes e doentes que desenvolvem anticorpos após a administração de AAV ⁸⁶. Há, assim, uma grande esperança na terapia génica; contudo, apesar de esta, no início da doença, poder ser capaz de reduzir o dano hepático na DW e prevenir e melhorar as suas manifestações clínicas, os benefícios do uso desta opção de tratamento terão que ser estudados e uma seleção apropriada dos doentes terá que ser determinada ¹²⁴.

Além destas perspetivas futuras, vale ainda a pena discutir e analisar o novo regime posológico de uma única toma diária da terapêutica quelante em doentes estáveis com DW ⁸⁷.

Relativamente a Portugal, é necessário um estudo prospetivo multicêntrico para abordar melhor outros fatores na população de doentes de DW, como a caracterização molecular de mutações genéticas em Portugal e o tratamento da doença em doentes com envolvimento neurológico (na medida em que ainda há muitas questões por responder sobre este assunto específico) ⁴⁷.

7 Conclusão

Apesar de a DW ser uma doença relativamente rara, esta deve ser considerada em qualquer pessoa que apresente sintomas consistentes com a mesma, como sintomas hepáticos e neurológicos sem causa aparente. Isto porque, quanto mais cedo for o diagnóstico, melhor para os doentes tanto a nível de esperança de vida como QV.

Ao longo dos anos houve muito progressos relativamente à patogénese da DW e, como resultado, uma melhor compreensão da doença, uma evolução no diagnóstico da mesma e consequentes ferramentas de diagnóstico e um maior desenvolvimento de terapêuticas novas com o intuito de tratar a doença. No entanto, muitas ferramentas de diagnóstico ainda não são completamente específicas para a DW e os tratamentos que se encontram disponíveis atualmente, apesar de eficazes, possuem inúmeros efeitos secundários e impõem ao doente o seguimento de um regime posológico inflexível, com várias tomas diárias, o que pode significar um problema de adesão à terapêutica, especialmente sendo um tratamento vitalício, o que pode agravar o estado clínico dos doentes e por conseguinte a sua QV.

Como já referido, existem ainda muitos desafios pela frente, mas também oportunidades como a terapia celular e a terapia génica, fornecendo uma cura à doença, tal como a transplantação hepática, mas sem a obrigatoriedade de uma imunossupressão para toda a vida.

Em conclusão, com uma melhor compreensão da DW é possível enfrentar agora oportunidades crescentes e alguns desafios na otimização do seu diagnóstico e tratamento. Estes desafios devem motivar médicos e investigadores a melhorar a gestão desta condição, que muitas vezes é vista como muito rara ou muito benigna para ser estudada ¹²². De facto, existe ainda uma necessidade indiscutível em desenvolver terapêuticas inovadoras e técnicas de diagnóstico mais sensíveis e específicas, com o objetivo de continuamente melhorar a QV dos doentes com DW.

Bibliografia

1. Dooley JS, Purchase R. History of Wilson Disease. In: Weiss KH, Schilsky ML, eds. *Wilson Disease - Pathogenesis, Molecular Mechanisms, Diagnosis, Treatment and Monitoring*. 1st ed. Academic Press; 2019:3-14.
doi:10.1016/B978-0-12-811077-5.00001-3
2. Walshe JM. History of Wilson disease: a personal account. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:1-5. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00001-X
3. Chandra A, Moni S, Bhattacharjee MB, Kar BSRG, Sherman S V. Kayser–Fleischer Rings in Wilson’s Disease. *N Engl J Med*. 2021;385(14):e46.
doi:10.1056/NEJMCM2103029
4. Schilsky ML. A century for progress in the diagnosis of Wilson disease. *J Trace Elem Med Biol*. 2014;28(4):492-494. doi:10.1016/J.JTEMB.2014.06.016
5. Walshe JM, Scheinberg IH, United States-United Kingdom Educational Commission. Tetrathiomolybdate (MoS₄) as an “anti-copper” agent in man. In: *Orphan Diseases and Orphan Drugs*. 1st ed. Manchester University Press; 1986:76-85.
6. Walshe JM. The acute haemolytic syndrome in Wilson’s disease—a review of 22 patients. *QJM An Int J Med*. 2013;106(11):1003-1008.
doi:10.1093/QJMED/HCT137
7. Encyclopædia Britannica. *Copper | Uses, Properties, & Facts*. Accessed June 26, 2022. <https://www.britannica.com/science/copper>
8. Collins JF. Copper. In: Marriott BP, Birt DF, Stallings VA, Yates AA, eds. *Present Knowledge in Nutrition*. 11th ed. Academic Press; 2020:409-427.
doi:10.1016/B978-0-323-66162-1.00024-X
9. Collins JF. Copper: Basic Physiological and Nutritional Aspects. In: Collins JF, ed. *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals*. 1st ed. Academic Press; 2017:69-83. doi:10.1016/B978-0-12-802168-2.00007-5

10. House JE. Introduction to coordination chemistry. In: *Inorganic Chemistry*. 3rd ed. Academic Press; 2020:643-686. doi:10.1016/B978-0-12-814369-8.00016-9
11. Chaurin V, Constable EC, Housecroft CE. What is the coordination number of copper(II) in metallosupramolecular chemistry? *New J Chem*. 2006;30(12):1740-1744. doi:10.1039/B610306E
12. Krasnovskaya O, Naumov A, Guk D, et al. Copper Coordination Compounds as Biologically Active Agents. *Int J Mol Sci*. 2020;21(11):3965. doi:10.3390/IJMS21113965
13. National Institutes of Health. *Copper - Health Professional Fact Sheet*. Accessed June 26, 2022. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Copper-HealthProfessional/>
14. Bulcke F, Dringen R, Scheiber IF. Neurotoxicity of Copper. In: Aschner M, Costa LG, eds. *Neurotoxicity of Metals*. Vol 18. Springer, Cham; 2017:313-343. doi:10.1007/978-3-319-60189-2_16
15. Niccoli Asabella A, Cascini GL, Altini C, Paparella D, Notaristefano A, Rubini G. The copper radioisotopes: A systematic review with special interest to ⁶⁴Cu. *Biomed Res Int*. Published online 2014. doi:10.1155/2014/786463
16. Guengerich FP. Introduction to Metals in Biology 2018: Copper homeostasis and utilization in redox enzymes. *J Biol Chem*. 2018;293(13):4603-4605. doi:10.1074/JBC.TM118.002255
17. Bhattacharjee A, Chakraborty K, Shukla A. Cellular copper homeostasis: current concepts on its interplay with glutathione homeostasis and its implication in physiology and human diseases. *Metallomics*. 2017;9(10):1376-1388. doi:10.1039/C7MT00066A
18. Shanbhag VC, Gudekar N, Jasmer K, Papageorgiou C, Singh K, Petris MJ. Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. Vol 1868. Elsevier; 2021:1-16. doi:10.1016/J.BBAMCR.2020.118893
19. Nishito Y, Kambe T. Absorption Mechanisms of Iron, Copper, and Zinc: An

- Overview. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2018;64:1-7.
20. Przybyłkowski A, Gromadzka G, Wawer A, Grygorowicz T, Cybulska A, Członkowska A. Intestinal expression of metal transporters in Wilson's disease. *BioMetals*. 2013;26(6):925-934. doi:10.1007/S10534-013-9668-5/FIGURES/3
 21. Pak K, Ordway S, Sadowski B, Canevari M, Torres D. Wilson's Disease and Iron Overload: Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Clin Liver Dis*. 2021;17(2):61-66. doi:10.1002/CLD.986
 22. Harder NHO, Lee HP, Flood VJ, San Juan JA, Gillette SK, Heffern MC. Fatty Acid Uptake in Liver Hepatocytes Induces Relocalization and Sequestration of Intracellular Copper. *Front Mol Biosci*. 2022;9:1-13. doi:10.3389/FMOLB.2022.863296/BIBTEX
 23. Chen J, Jiang Y, Shi H, Peng Y, Fan X, Li C. The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2020;472(10):1415-1429. doi:10.1007/S00424-020-02412-2
 24. Shribman S, Poujois A, Bandmann O, Członkowska A, Warner TT. Wilson's disease: update on pathogenesis, biomarkers and treatments. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2021;92(10):1053-1061. doi:10.1136/JNNP-2021-326123
 25. European Food Safety Authority. *Updated advice on acceptable intake for copper*. Accessed June 20, 2022. <https://www.efsa.europa.eu/pt/news/updated-advice-acceptable-intake-copper-consultation-open>
 26. Lopez MJ, Royer A, Shah NJ. Biochemistry, Ceruloplasmin. StatPearls. Accessed June 22, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554422/>
 27. Luini A, Parashuraman S. Golgi and TGN. In: Bradshaw R, Stahl P, eds. *Encyclopedia of Cell Biology*. Vol 2. 1st ed. Academic Press; 2016:183-191. doi:10.1016/B978-0-12-394447-4.20014-X
 28. Mohr I, Weiss KH. Biochemical Markers for the Diagnosis and Monitoring of Wilson Disease. *Clin Biochem Rev*. 2019;40(2):59. doi:10.33176/AACB-18-00014

29. Shabb JB, Muhonen WW, Mehus AA. Quantitation of Human Metallothionein Isoforms in Cells, Tissues, and Cerebrospinal Fluid by Mass Spectrometry. In: Shukla AK, ed. *Methods in Enzymology*. Vol 586. Academic Press Inc.; 2017:413-431. doi:10.1016/BS.MIE.2016.11.004
30. Linder MC. Copper Homeostasis in Mammals, with Emphasis on Secretion and Excretion. A Review. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14):4932. doi:10.3390/IJMS21144932
31. Tang S, Yu X, Wu C, Tang S, Yu X, Wu C. Comparison of the Levels of Five Heavy Metals in Human Urine and Sweat after Strenuous Exercise by ICP-MS. *J Appl Math Phys*. 2016;4(2):183-188. doi:10.4236/JAMP.2016.42022
32. Kuan WH, Chen YL, Liu CL. Excretion of Ni, Pb, Cu, As, and Hg in Sweat under Two Sweating Conditions. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(7):1-9. doi:10.3390/IJERPH19074323
33. Liang G, Pan L, Liu X. Assessment of Typical Heavy Metals in Human Hair of Different Age Groups and Foodstuffs in Beijing, China. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(8):1-10. doi:10.3390/IJERPH14080914
34. Lo C, Bandmann O. Epidemiology and introduction to the clinical presentation of Wilson disease. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:7-17. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00002-1
35. Sandahl TD, Laursen TL, Munk DE, Vilstrup H, Weiss KH, Ott P. The Prevalence of Wilson's Disease: An Update. *Hepatology*. 2020;71(2):722-732. doi:10.1002/HEP.30911
36. Liu J, Luan J, Zhou X, Cui Y, Han J. Epidemiology, diagnosis, and treatment of Wilson's disease. *Intractable Rare Dis Res*. 2017;6(4):249-255. doi:10.5582/IRDR.2017.01057
37. Poujois A, Woimant F, Samson S, Chaine P, Girardot-Tinant N, Tuppin P. Characteristics and prevalence of Wilson's disease: A 2013 observational population-based study in France. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(1):57-63. doi:10.1016/J.CLINRE.2017.05.011

38. Tai CS, Wu JF, Chen HL, Hsu HY, Chang MH, Ni YH. Modality of treatment and potential outcome of Wilson disease in Taiwan: A population-based longitudinal study. *J Formos Med Assoc.* 2018;117(5):421-426. doi:10.1016/J.JFMA.2017.05.008
39. Wijayasiri P, Hayre J, Nicholson ES, et al. Estimating the clinical prevalence of Wilson's disease in the UK. *JHEP Reports.* 2021;3(5):100329. doi:10.1016/J.JHEPR.2021.100329
40. Gialluisi A, Incollu S, Pippucci T, et al. The homozygosity index (HI) approach reveals high allele frequency for Wilson disease in the Sardinian population. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(11):1308-1311. doi:10.1038/ejhg.2013.43
41. Rodriguez-Castro KI, Hevia-Urrutia FJ, Sturniolo GC. Wilson's disease: A review of what we have learned. *World J Hepatol.* 2015;7(29):2859-2870. doi:10.4254/wjh.v7.i29.2859
42. Fadda M Al, Quaiz M Al, Ashgar H Al, et al. Wilson disease in 71 patients followed for over two decades in a tertiary center in Saudi Arabia: a retrospective review. *Ann Saudi Med.* 2012;32(6):623-629. doi:10.5144/0256-4947.2012.623
43. Gao J, Brackley S, Mann JP. The global prevalence of Wilson disease from next-generation sequencing data. *Genet Med.* 2019;21(5):1155-1163. doi:10.1038/S41436-018-0309-9
44. Choe EJ, Choi JW, Kang M, et al. A population-based epidemiology of Wilson's disease in South Korea between 2010 and 2016. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-10. doi:10.1038/s41598-020-70976-1
45. Sandahl TD, Ott P. Epidemiology of Wilson Disease. In: Weiss KH, Schilsky M, eds. *Pathogenesis, Molecular Mechanisms, Diagnosis, Treatment and Monitoring.* 1st ed. Academic Press; 2019:85-94. doi:10.1016/B978-0-12-811077-5.00007-4
46. INFARMED. *Relatório Público de Avaliação Cuprior (Trientina).*; 2020. Accessed July 1st 2022. <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1424140/Relatório+de+avaliação+d>

e+financiamento+público+de+Cuprior+%28DCI+Trientina%29+2021/6fe251e
d-fe43-9a90-f7b9-81e4e63935fb

47. Rosa J. Clinical Characterisation of Wilson's Disease Patients and Predictors of Neurological Involvement: A Retrospective Study at a Tertiary Care Centre in Lisbon. *Sinapse*. 2021;21(3):143-151. doi:10.46531/sinapse/AO/210033/2021
48. Coffey AJ, Durkie M, Hague S, et al. A genetic study of Wilson's disease in the United Kingdom. *Brain*. 2013;136(5):1476-1487. doi:10.1093/BRAIN/AWT035
49. Chiolero A, Leyvraz M, Bovet P, et al. Wilson's disease in Spain, period 2010-2015. *Eur J Public Health*. 2018;28(suppl_4). doi:10.1093/EURPUB/CKY213.712
50. Collet C, Laplanche JL, Page J, Morel H, Woimant F, Poujois A. High genetic carrier frequency of Wilson's disease in France: Discrepancies with clinical prevalence. *BMC Med Genet*. 2018;19(1):1-6. doi:10.1186/s12881-018-0660-3
51. Roberts EA, Socha P. Wilson disease in children. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:141-156. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00012-4
52. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, et al. Wilson's Disease in Children: A Position Paper by the Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018;66(2):334-344. doi:10.1097/MPG.0000000000001787
53. Fernando M, Van Mourik I, Wassmer E, Kelly D. Wilson disease in children and adolescents. *Arch Dis Child*. 2020;105(5):499-505. doi:10.1136/ARCHDISCHILD-2018-315705
54. Kelly DA. Diseases of the liver and biliary system in children. In: Kelly DA, ed. *Diseases of the Liver and Biliary System in Children*. 4th ed. Wiley-Blackwell; 2017:323-339.
55. Stremmel W, Weiskirchen R. Therapeutic strategies in Wilson disease:

- pathophysiology and mode of action. *Ann Transl Med.* 2021;9(8):732.
doi:10.21037/ATM-20-3090
56. Scheiber IF, Brůha R, Dušek P. Pathogenesis of Wilson disease. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology.* Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:43-55. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00005-7
 57. Pronicki M. Wilson disease – liver pathology. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology.* Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:71-75. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00007-0
 58. Boga S, Ala A, Schilsky ML. Hepatic features of Wilson disease. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology.* Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:91-99. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00009-4
 59. Gromadzka G, Tarnacka B, Flaga A, Adamczyk A. Copper Dyshomeostasis in Neurodegenerative Diseases—Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9259. doi:10.3390/IJMS21239259
 60. Poujois A, Mikol J, Woimant F. Wilson disease: brain pathology. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology.* Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:77-89. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00008-2
 61. Ortiz JF, Cox ÁM, Tambo W, et al. Neurological Manifestations of Wilson's Disease: Pathophysiology and Localization of Each Component. *Cureus.* 2020;12(11):e11509. doi:10.7759/CUREUS.11509
 62. Bayram AK, Gümüş H, Arslan D, et al. Neurological features and management of Wilson disease in children: An evaluation of 12 cases. *Turk Pediatr Ars.* 2016;51(1):15-21. doi:10.5152/TURKPEDIATRIARS.2016.3080
 63. Rukunuzzaman M. Wilson's Disease in Bangladeshi Children: Analysis of 100 Cases. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2015;18(2):121-127. doi:10.5223/PGHN.2015.18.2.121
 64. Noureen N, Tariq Rana M. Neurological Wilson Disease in children: a three years experience from Multan. *J Pak Med Assoc.* 2011;61(8):743-748.
 65. Maciel R, Portela DC, Xavier-Souza G, Maia D, Cardoso F. Improvement of

- “Wing-Beating” Tremor in Wilson’s Disease With High Dose of Zolpidem: A Case Report. *Mov Disord Clin Pract*. 2019;6(7):608-609.
doi:10.1002/MDC3.12815
66. Członkowska A, Litwin T, Chabik G. Wilson disease: neurologic features. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:101-119. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00010-0
 67. Litwin T, Dusek P, Szafranski T, Dzieżyc K, Członkowska A, Rybakowski JK. Psychiatric manifestations in Wilson’s disease: possibilities and difficulties for treatment. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2018;8(7):199-211.
doi:10.1177/2045125318759461
 68. Zimbrea P, Seniów J. Cognitive and psychiatric symptoms in Wilson disease. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:121-140. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00011-2
 69. Zimbrea PC, Schilsky ML. Psychiatric aspects of Wilson disease: a review. *Gen Hosp Psychiatry*. 2014;36(1):53-62.
doi:10.1016/J.GENHOSPPSYCH.2013.08.007
 70. Ferenci P, Członkowska A, Stremmel W, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson’s disease. *J Hepatol*. 2012;56(3):671-685.
doi:10.1016/J.JHEP.2011.11.007
 71. Favre E, Lion-François L, Canton M, et al. Cognitive Abilities of Children with Neurological and Liver Forms of Wilson Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(3):436-439. doi:10.1097/MPG.0000000000001346
 72. Carta MG, Mura G, Sorbello O, Farina G, Demelia L. Quality of Life and Psychiatric Symptoms in Wilson’s Disease: the Relevance of Bipolar Disorders. *Clin Pract Epidemiol Ment Heal*. 2012;8(1):102-109.
doi:10.2174/1745017901208010102
 73. Ma Y, Xiang Q, Yan C, Liao H, Wang J. Relationship between chronic diseases and depression: the mediating effect of pain. *BMC Psychiatry*. 2021;21(1):1-11. doi:10.1186/S12888-021-03428-3/FIGURES/1

74. Li H, Ge S, Greene B, Dunbar-Jacob J. Depression in the context of chronic diseases in the United States and China. *Int J Nurs Sci*. 2019;6(1):117-122. doi:10.1016/J.IJNSS.2018.11.007
75. Vahid-Ansari F, Albert PR. Rewiring of the Serotonin System in Major Depression. *Front Psychiatry*. 2021;12:802581. doi:10.3389/FPSYT.2021.802581/BIBTEX
76. Harvey PD. Domains of cognition and their assessment. *Dialogues Clin Neurosci*. 2019;21(3):227-237. doi:10.31887/DCNS.2019.21.3/PHARVEY
77. Schilsky ML. Wilson Disease and Related Disorders. In: Friedman LS, Keeffe EB, eds. *Handbook of Liver Disease*. 4th ed. Elsevier; 2018:253-268. doi:10.1016/B978-0-323-47874-8.00019-5
78. Dzieżyc-Jaworska K, Litwin T, Członkowska A. Clinical manifestations of Wilson disease in organs other than the liver and brain. *Ann Transl Med*. 2019;7(Suppl 2):1-7. doi:10.21037/ATM.2019.03.30
79. Sintusek P, Chongsrisawat V, Poovorawan Y. Wilson's disease in Thai children between 2000 and 2012 at king chulalongkorn memorial hospital. *J Med Assoc Thai*. 2016;99(2):182-187.
80. Sintusek P, Kyrana E, Dhawan A. Diagnosis of Hepatic Wilson Disease. In: Weiss KH, Schilsky ML, eds. *Wilson Disease - Pathogenesis, Molecular Mechanisms, Diagnosis, Treatment and Monitoring*. 1st ed. Academic Press; 2019:125-138. doi:10.1016/B978-0-12-811077-5.00011-6
81. Gálvez-Cárdenas KM, Santos-Sánchez OM, Morales DAM. Anemia hemolítica como presentación inicial de la enfermedad de Wilson: A propósito de una enfermedad rara con una presentación infrecuente. *Acta Médica Colomb*. 2020;45(1):1-4. doi:10.36104/AMC.2020.1459
82. Schaefer M, Weber L, Gotthardt D, et al. Coagulation Parameters in Wilson Disease. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2015;24(2):183-188. doi:10.15403/JGLD.2014.1121.242.WLS
83. Dzieżyc K, Litwin T, Członkowska A. Other organ involvement and clinical

- aspects of Wilson disease. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:157-169.
doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00013-6
84. Yu H, Xie JJ, Chen YC, et al. Clinical features and outcome in patients with osseomuscular type of Wilson's disease. *BMC Neurol*. 2017;17(1):1-6.
doi:10.1186/S12883-017-0818-1/FIGURES/3
 85. Goyal R, Chacham S, Goyal JP, Chegondi M. Wilson's Disease Masquerading as Juvenile Idiopathic Arthritis in an Adolescent. *Cureus*. 2020;12(7).
doi:10.7759/CUREUS.9160
 86. Moini M, To U, Schilsky ML. Recent advances in Wilson disease. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2021;6:21. doi:10.21037/TGH-2020-02
 87. Socha P, Członkowska A, Janczyk W, Litwin T. Wilson's disease-management and long term outcomes. Gottrand F, Turck D, eds. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2021;56-57:101768. doi:10.1016/J.BPG.2021.101768
 88. Sánchez-Monteagudo A, Ripollés E, Berenguer M, Espinós C. Wilson's Disease: Facing the Challenge of Diagnosing a Rare Disease. *Biomedicines*. 2021;9(9):1100. doi:10.3390/BIOMEDICINES9091100
 89. Kasztelan-Szczerbinska B, Cichoz-Lach H. Wilson's disease: an update on the diagnostic workup and management. *J Clin Med*. 2021;10(21):5097.
doi:10.3390/jcm10215097
 90. Chaudhry HS, Anilkumar AC. Wilson Disease. StatPearls [Internet]. Published May 8, 2022. Accessed July 2, 2022.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441990/>
 91. Schroeder SM, Matsukuma KE, Medici V. Wilson disease and the differential diagnosis of its hepatic manifestations: a narrative review of clinical, laboratory, and liver histological features. *Ann Transl Med*. 2021;9(17):1394.
doi:10.21037/atm-21-2264
 92. Espinós C, Ferenci P. Are the new genetic tools for diagnosis of Wilson disease helpful in clinical practice? *JHEP Reports*. 2020;2(4):100114.

doi:10.1016/J.JHEPR.2020.100114

93. Członkowska A, Litwin T. Wilson disease – currently used anticopper therapy. In: Członkowska A, Schilsky ML, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol 142. 1st ed. Elsevier; 2017:181-191. doi:10.1016/B978-0-444-63625-6.00015-X
94. Wiernicka A, Dadalski M, Jańczyk W, et al. Early Onset of Wilson Disease: Diagnostic Challenges. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;65(5):555-560. doi:10.1097/MPG.0000000000001700
95. Palumbo CS, Schilsky ML. Clinical practice guidelines in Wilson disease. *Ann Transl Med*. 2019;7(Suppl 2):S65-S65. doi:10.21037/ATM.2018.12.53
96. Roberts EA, Schilsky ML. AASLD PRACTICE GUIDELINES Diagnosis and Treatment of Wilson Disease: An Update. *Hepatology*. 2008;47(6):2089-2111. doi:10.1002/hep.22261
97. Healthline. *8 Foods That Are High in Copper - Evidence Based*. Published 2018. Accessed July 11, 2022. <https://www.healthline.com/nutrition/foods-high-in-copper>
98. Nagral A, Sarma MS, Matthai J, et al. Wilson's Disease: Clinical Practice Guidelines of the Indian National Association for Study of the Liver, the Indian Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, and the Movement Disorders Society of India. *J Clin Exp Hepatol*. 2019;9(1):74-98. doi:10.1016/J.JCEH.2018.08.009
99. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 5852, Penicillamine*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Penicillamine#section=2D-Structure>
100. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 5565, Triethylenetetramine*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triethylenetetramine>
101. Weiss KH, Thurik F, Gotthardt DN, et al. Efficacy and Safety of Oral Chelators

- in Treatment of Patients With Wilson Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(8):1028-1035.e2. doi:10.1016/J.CGH.2013.03.012
102. Weiss KH, Thompson C, Dogterom P, et al. Comparison of the Pharmacokinetic Profiles of Trientine Tetrahydrochloride and Trientine Dihydrochloride in Healthy Subjects. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2021;46(5):665-675. doi:10.1007/S13318-021-00704-1
 103. European Medicines Agency. *Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Cufence Assessment report*.; 2019. Accessed September 2, 2022. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/cufence-epar-public-assessment-report_en.pdf
 104. European Medicines Agency. *Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Cuprior assessment report*.; 2017. Accessed September 2, 2022. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/cuprior-epar-public-assessment-report_en.pdf
 105. Ala A, Aliu E, Schilsky ML. Prospective Pilot Study of a Single Daily Dosage of Trientine for the Treatment of Wilson Disease. *Dig Dis Sci*. 2015;60(5):1433-1439. doi:10.1007/S10620-014-3495-6/TABLES/3
 106. European Medicines Agency. *Cuprior, INN-Trientine Tetrahydrochloride*.; 2017. www.ema.europa.eu/contact
 107. Hou H, Chen D, Liu J, et al. Zinc monotherapy for young patients with oligosymptomatic Wilson disease: A single center, retrospective study. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2021;45(6):101623. doi:10.1016/J.CLINRE.2021.101623
 108. Eda K, Mizuochi T, Iwama I, et al. Zinc monotherapy for young children with presymptomatic Wilson disease: A multicenter study in Japan. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018;33(1):264-269. doi:10.1111/JGH.13812
 109. Ranucci G, Di Dato F, Spagnuolo MI, Vajro P, Iorio R. Zinc monotherapy is effective in Wilson's disease patients with mild liver disease diagnosed in childhood: A retrospective study. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9(1):41. doi:10.1186/1750-1172-9-41

110. Santiago R, Gottrand F, Debray D, et al. Zinc Therapy for Wilson Disease in Children in French Pediatric Centers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;61(6):613-618. doi:10.1097/MPG.0000000000000926
111. Camarata MA, Ala A, Schilsky ML. Zinc Maintenance Therapy for Wilson Disease: A Comparison Between Zinc Acetate and Alternative Zinc Preparations. *Hepatol Commun*. 2019;3(8):1151-1158. doi:10.1002/HEP4.1384
112. Wiernicka A, Jańczyk W, Dadalski M, Avsar Y, Schmidt H, Socha P. Gastrointestinal side effects in children with Wilson's disease treated with zinc sulphate. *World J Gastroenterol*. 2013;19(27):4356-4362. doi:10.3748/wjg.v19.i27.4356
113. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 24424, Zinc sulfate*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Zinc-sulfate>
114. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 11192, Zinc acetate*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ZINC-acetate>
115. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 443445, Zinc gluconate*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ZINC-gluconate#section=2D-Structure>
116. European Medicines Agency. Committee for Orphan Medicinal Products Public Summary of Positive Opinion for Orphan Designation of *Ammonium Tetrathiomolybdate for the Treatment of Wilson's Disease*.; 2008. Accessed July 27, 2022. <http://www.emea.europa.eu>
117. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 15251598, Ammonium tetrathiomolybdate*. Accessed September 2, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ammonium-tetrathiomolybdate#section=2D-Structure>
118. National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound Summary for CID 18442052, Bis(choline)tetrathiomolybdate*. Accessed September

- 3, 2022.
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bis_choline_tetrathiomolybdate#section=2D-Structure
119. Aaraj S, Khan SA, Ali N, Iqbal Malik MI, Dar FS. Wilson Disease in Children; Chelation Therapy or Liver Transplantation? A 10-Year Experience from Pakistan. *Ann Transplant*. 2021;26. doi:10.12659/AOT.932606
 120. Mulligan C, Bronstein JM. Wilson Disease: An Overview and Approach to Management. *Neurol Clin*. 2020;38(2):417-432. doi:10.1016/J.NCL.2020.01.005
 121. Unavane O, Tiwari K, Nagral A, et al. Quality of Life of Patients with Wilson's Disease and Their Families. *J Clin Exp Hepatol*. Published online June 9, 2021. doi:10.1016/J.JCEH.2021.05.013
 122. Leung M, Aronowitz PB, Medici V. The Present and Future Challenges of Wilson's Disease Diagnosis and Treatment. *Clin Liver Dis*. 2021;17(4):267-270. doi:10.1002/CLD.1041
 123. Ferenci P, Stremmel W, Członkowska A, et al. Age and Sex but Not ATP7B Genotype Effectively Influence the Clinical Phenotype of Wilson Disease. *Hepatology*. 2019;69(4):1464-1476. doi:10.1002/HEP.30280
 124. Lankarani KB. Challenging issues in the management of Wilson's disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2018;42(6):e95-e96. doi:10.1016/j.clinre.2018.06.007
 125. Poujois A, Woimant F. Answer to challenging issues in the management of Wilson's disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2019;43(1):e7-e8. doi:10.1016/j.clinre.2018.07.006
 126. Litwin T, Dzieżyc K, Członkowska A. Wilson disease—treatment perspectives. *Ann Transl Med*. 2019;7(Suppl 2):14-14. doi:10.21037/ATM.2018.12.09
 127. Lichtmanegger J, Leitzinger C, Wimmer R, et al. Methanobactin reverses acute liver failure in a rat model of Wilson disease. *J Clin Invest*. 2016;126(7):2721-2735. doi:10.1172/JCI85226

128. Müller JC, Lichtmanegger J, Zischka H, Sperling M, Karst U. High spatial resolution LA-ICP-MS demonstrates massive liver copper depletion in Wilson disease rats upon Methanobactin treatment. *J Trace Elem Med Biol.* 2018;49:119-127. doi:10.1016/J.JTEMB.2018.05.009
129. Murillo O, Luqui DM, Gazquez C, et al. Long-term metabolic correction of Wilson's disease in a murine model by gene therapy. *J Hepatol.* 2016;64(2):419-426. doi:10.1016/J.JHEP.2015.09.014
130. Murillo O, Moreno D, Gazquez C, et al. Liver Expression of a MiniATP7B Gene Results in Long-Term Restoration of Copper Homeostasis in a Wilson Disease Model in Mice. *Hepatology.* 2019;70(1):108-126. doi:10.1002/HEP.30535