

Programa de posgraduación en Genética

Tesis de Maestría

REPORTE DE CASO: ENFERMEDAD DE WILSON, UN RETO DIAGNÓSTICO.

Autor
JAIME NAVARRO NAVARRO

Barraquilla (Atlántico), Colombia

2019

Universidad Simón Bolívar
Programa de posgraduación en Genética

REPORTE DE CASO: ENFERMEDAD DE WILSON, UN RETO DIAGNÓSTICO.

Tesis presentada al Programa de
Postgrado en Genética como
requisito parcial para obtener
el grado de Maestre.

Autor
JAIME NAVARRO NAVARRO

Tutor:
Dayan Lozano Solano PhD (c)

Cotutor:
Cristiano Trindade PhD.

Barraquilla (Atl), Colombia

2019

Dedicatoria

A Dios por una muestra más de su infinita misericordia, otorgándome la fortaleza y voluntad para sacar adelante este nuevo proyecto.

A mi tía Marta (QEPD), mi segunda madre, el ángel que desde el cielo me cuida, por sus enseñanzas y amor desinteresado.

A mis padres, por su ejemplo de superación y crecimiento profesional, por su incondicional apoyo a lo largo de mi vida.

Agradecimientos

A la Universidad Simón Bolívar por su apoyo académico y científico en la realización de mi investigación.

A mis tutores los doctores Dayan Lozano y Cristiano Trindade por su dedicación y aportes en la estructura de presentación de este informe final.

A mis compañeros de la maestría en genética de la Universidad Simón Bolívar por las experiencias compartidas a lo largo de este proceso.

Al paciente estudio y su núcleo familiar, quienes han dejado en mí una huella imborrable de amor y resiliencia.

Resumen

La enfermedad de Wilson es un trastorno genético de transmisión autosómica recesiva, producida por la mutación del gen ATP7B. Es considerada una enfermedad rara o huérfana debido a su baja prevalencia. Sin embargo, es una enfermedad crónica que puede llevar al deterioro de la calidad de vida del paciente poniéndolo en riesgo de muerte, por lo que se considera una enfermedad catastrófica. El gen ATP7B es determinante en el proceso de eliminación del cobre del organismo, por tanto, la mutación génica implica a su acumulación principalmente en el hígado y Sistema Nervioso Central (SNC). El diagnóstico de la enfermedad en etapas tempranas es vital para el control de los síntomas y evitar el deterioro hepático, neurológico y/o psiquiátrico del paciente. Sin embargo, la inespecificidad de los síntomas, así como la tardía edad de inicio de estos, dificulta su diagnóstico oportuno. La detección de los signos clínicos de la enfermedad y las anomalías genéticas asociadas, son necesarias para iniciar un tratamiento efectivo, si bien la enfermedad no es curable, el tratamiento farmacológico oportuno con medicamentos quelantes, minimizan los efectos del cobre en el organismo. **Objetivo:** Describir las características clínicas y el genotipo y de un paciente con diagnóstico clínico de la enfermedad de Wilson y analizar su evolución durante el tratamiento recibido. **Metodología:** Se realizó el análisis genético de las variantes presentadas por el paciente mediante secuenciación genómica y otras pruebas de química sanguínea para relacionar los signos y síntomas con la variante presentada por el paciente. **Resultados:** La edad de aparición de la enfermedad en el paciente estudiado es de 25 años. El paciente presentó manifestaciones psiquiátricas, neurológicas y hepáticas; acompañado de signos característicos de la enfermedad de Wilson: Ceruloplasmina baja, cobre sérico disminuido y cobre en orina aumentado y presencia de anillo de Kayser-Fleischer, el cual debido a la buena adherencia al tratamiento ha desaparecido. El paciente presentó dos mutaciones asociadas con la enfermedad de Wilson de acuerdo con la literatura: Transversión de una base T por una G (M [A T G]> R [A

G G]) en heterocigosis cercana al sitio dador del splicing del intrón 13 (c.3060+5G>T) y deleción de una base C (c.3402delC) generando una alteración en el marco de lectura dando lugar a un codón de parada prematuro (p.Ala1135Glnfs*13). **Conclusiones:** En la actualidad, el paciente se encuentra en aceptables condiciones generales a pesar de los notables efectos de invalidez que provoca la enfermedad de Wilson en las personas afectadas. Se considera que la satisfactoria evolución del sujeto está asociada a una buena adherencia al tratamiento, a la intervención multidisciplinaria y al incondicional apoyo psicosocial recibido por su núcleo familiar

Palabras clave: Enfermedades raras, ATPasas Transportadoras de Cobre, Degeneración Hepatolenticular

Abstract

Wilson's disease is an autosomal recessive genetic transmission disorder, caused by the mutation of the ATP7B gene. It is considered a rare or orphan disease due to its low prevalence. However, it is a chronic disease that can lead to the deterioration of the patient's quality of life putting him at risk of death, which is why it is considered a catastrophic disease. The ATP7B gene is decisive in the process of eliminating copper from the body, therefore, gene mutation leads to its accumulation mainly in the liver and Central Nervous System (CNS). The diagnosis of the disease in early stages is vital for the control of the symptoms and to avoid the hepatic, neurological and / or psychiatric deterioration of the patient. However, the non-specificity of the symptoms, as well as the late age of onset of these, hinders their timely diagnosis. The detection of the clinical signs of the disease and the associated genetic abnormalities, are necessary to initiate an effective treatment, although the disease is not curable, the timely pharmacological treatment with chelating drugs minimizes the effects of copper in the organism.

Objective: To determine the clinical characteristics and genotype and of a patient with a clinical diagnosis of Wilson's disease and analyze its evolution during the treatment received, for the disclosure of a clinical case, in order to generate timely diagnostic guidelines in these patients. **Methodology:** The genetic analysis of the variants presented by the patient was performed by genomic sequencing and other blood chemistry tests to relate the signs and symptoms with the variant presented by the patient. **Results:** The age of onset of the disease in the patient studied is 25 years. The patient presented psychiatric, neurological and hepatic manifestations; accompanied by characteristic signs of Wilson's disease: Low ceruloplasmin, decreased serum copper and Increased urine copper and Kayser's ring, which due

to good adherence to treatment has disappeared. The patient presented two mutations associated with Wilson's disease according to the literature: Transversion of a T base by a G (M [ATG]> R [AGG]) in heterozygosis close to the intron splicing donor site 13 (c. 3060 + 5G> T) and deletion of a C base (c.3402delC) generating an alteration in the reading frame resulting in a premature stop codon (e.g. Ala1135Glnfs * 13).

Keywords: Rare diseases, copper -transporting ATPases, Hepatolenticular Degeration.

Contenido

	Pág.
1. Problema de Investigación.....	13
2. Objetivos	15
3. Marco Teórico	16
4. Diseño Metodológico.....	53
5. Resultados y discusión	55
6. Conclusiones y Recomendaciones	78
7. Referencias Bibliográficas	86

Lista de figuras

Figura 1. Diagrama esquemático de reacciones secuenciales en el ciclo catalítico de la ATPasa de Ca^{2+}	29
Figura 2. Topología de membrana y disposición secuencial de dominios funcionales conservados de CPx-ATPasas	31
Figura 3. Diagrama plegable de la secuencia (bacteriana) de <i>T. maritima</i> CopA	32
Figura 4. Estructura de las ATPasas de cobre de mamíferos.....	34
Figura 5. Estructura y función de la proteína ATP7B	37
Figura 6. Estructura organizacional de la proteína ATP7B	38
Figura 7. Representación esquemática de SNP rs1353373400.....	72
Figura 8. Representación esquemática de SNP rs137853281	73

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Clasificación fenotípica de la enfermedad de Wilson.	45
Tabla 2. Score de Leipzig para el diagnóstico de enfermedad de Wilson	48
Tabla 3. Examen de laboratorio de paciente	62
Tabla 4. Reporte de secuenciación completa del gen ATP7B en paciente analizado	67
Tabla 5. SNP identificados en el paciente estudiado y publicaciones relacionadas	70
Tabla 6. Comparativo de estudios de referencia y caso clínico por genotipo y características clínicas	75

Lista de gráficos

Gráfico 1. Evolución de pruebas específicas de laboratorio del caso clínico 64

Gráfico 2. Familiograma del caso clínico 66

1. Problema de Investigación

1.1 Planteamiento del Problema

La enfermedad de Wilson (conocida por sus siglas en inglés WD) es un trastorno genético, autosómico recesivo, caracterizado por la acumulación tóxica de cobre en el organismo procedente de la dieta, y esto ocurre especialmente en el hígado, sistema nervioso, riñón y cornea (1).

En condiciones normales la mayor parte del cobre ingerido (1-3 mg/día) se elimina por la bilis y solo una pequeña cantidad por la orina. Los pacientes con enfermedad de Wilson presentan mutaciones en el gen ATP7B, localizado en el cromosoma 1 (13q14.3-q21.1), que codifica la proteína ATPasa transportadora de cobre tipo P (Holoceruplasmina), necesaria para eliminar el cobre sobrante desde el interior de la célula hepática a la bilis (2). La detección temprana y el tratamiento oportuno de la enfermedad de Wilson son fundamentales para prevenir discapacidades neuropsiquiátricas, hepáticas y sistémicas permanentes, que pueden llevar a la muerte del paciente (3).

La enfermedad de Wilson se ha convertido en un problema de salud pública en el mundo, con una incidencia de 1/30.000 nuevos casos por año (4). Se manifiesta generalmente entre los 5 y 35 años, sin embargo, puede presentarse a cualquier edad con síntomas leves o hallazgos bioquímicos anormales. Se estima que 1 de cada 30.000 personas padece esta enfermedad en el mundo, sin embargo, 1 de cada 90 puede ser portadora de alguna mutación asociada a la enfermedad. La dificultad en el diagnóstico podría ser la principal causa de la falta de registro de esta enfermedad a nivel mundial. Según Coffey y colaboradores, con base en el diagnóstico genético se han reportado las siguientes tasas de dicha enfermedad a nivel mundial, 1/10,000 personas (Cerdeña, Italia), 2.5/100,000 (Alemania), 3/

100,000 (Austria), 3.3/100,000 (Japón), 4.9/100,000 (Costa Rica), 1/7,000 (Reino Unido) con frecuencia de portadora de 1 en 40 según las pruebas de diagnóstico de mutación de 181 pacientes (5).

En Colombia, no hay cifras oficiales de incidencia y prevalencia de WD. Sin embargo, la Enfermedad de Wilson ha sido clasificada en la legislación colombiana como enfermedad huérfana, de acuerdo con la Ley 1392 de 2010 y la resolución 2048 de 2015 del Ministerio de Salud y Protección Social (6,7). Debido a la baja prevalencia y alto nivel de complejidad, el Decreto 1954 de 2012, dicta las disposiciones para poner en marcha un sistema de información de pacientes con enfermedades huérfanas y establecer un censo con el fin de tener la información de estas enfermedades que han sido definidas como de notificación obligatoria a los sistemas de vigilancia en salud pública nacional SIVIGILA (8).

Por su parte, la baja correlación genotipo-fenotipo en la enfermedad de Wilson, se ha convertido en un reto el diagnóstico para los profesionales de la salud, situación que trae consigo un inicio tardío del tratamiento, lo que implica el deterioro de los pacientes y una serie de complicaciones y secuelas permanentes que afectan su calidad de vida y la de su familia (2).

De acuerdo con lo planteado anteriormente, la pregunta problema es:

¿Cuáles son las características genotípicas y clínicas de un paciente diagnosticado con enfermedad de Wilson y su evolución con el tratamiento instaurado?

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Analizar las características genotípicas y clínicas del paciente diagnosticado con enfermedad de Wilson y su evolución durante el tratamiento recibido con el análisis de un caso clínico.

2.2 Objetivos específicos

- Describir las características clínicas - epidemiológicas del paciente con enfermedad de Wilson a través de la entrevista con el paciente y su familia, la elaboración de un familiograma, el análisis detallado de la historia clínica, y la realización de pruebas de laboratorio.
- Analizar la relación genotipo – fenotipo del paciente diagnosticado con enfermedad de Wilson a través de la secuenciación de última generación (NGS) del gen ATP7B.
- Correlacionar la evolución clínica del paciente con enfermedad de Wilson con el tratamiento instaurado.

3. Marco Teórico

3.1 Definición

La enfermedad de Wilson (WD, por sus siglas en inglés) es un trastorno hereditario del metabolismo del cobre causado por la acumulación patológica de este metal en muchos órganos, en particular en el hígado y el cerebro, lo que conduce a una amplia gama de signos y síntomas (9).

La enfermedad es causada por mutaciones homocigotas o heterocigotas (presencia de dos alelos mutantes diferentes) en el gen ATP7B que codifica una ATPasa transportadora de cobre transmembrana que media la excreción de cobre en bilis y proporciona el cobre necesario para la síntesis funcional de ceruloplasmina (la proteína principal que contiene cobre en la sangre) (10).

En WD, la función defectuosa de ATP7B conduce a una sobrecarga de cobre en los hepatocitos, asociándose a enfermedad hepática. El exceso de cobre también se libera en la circulación sanguínea con una acumulación patológica secundaria en otros tejidos, especialmente en el cerebro, que puede provocar síntomas neurológicos y trastornos psiquiátricos. Los síntomas varían ampliamente y se presentan más comúnmente entre las edades de 5 a 35 años. La WD es rara, se estima una prevalencia de la enfermedad sintomática en 1 en 30.000 nacidos vivos aproximadamente. Pertenece a un grupo de trastornos genéticos que pueden manejarse con éxito si se diagnostican y tratan correcta y oportunamente (9,11); sin embargo, si no se trata, WD es potencialmente fatal (12–14).

Samuel Alexander Kinnier Wilson describió por primera vez la enfermedad de Wilson (WD) en 12 pacientes en 1912 (15). Sin embargo, antes que fuera catalogada como una enfermedad, en 1883, Westphal, describió los casos de

pacientes con síntomas asociados a temblores dominantes, los cuales fueron relacionados con lo que hoy se conoce como enfermedad de Wilson(16). De igual forma, Kayser y Fleischer en 1902 y 1903 respectivamente, relacionaron los anillos corneales patognomónicos con la enfermedad (17). Luego siguió el descubrimiento de las alteraciones en el metabolismo del cobre como la etiología de la WD y la herencia autosómica recesiva. En 1945, se introdujo el primer tratamiento para la toxicosis por cobre en WD, British anti-Lewisite (BAL) (15). Rumpell demostró el incremento en el contenido de cobre en hígado y encéfalo en 1913, hecho que se ignoraría hasta que Mandelbrote en 1948 encontró cupruria aumentada en pacientes con WD (18).

En 1956, la d-penicilamina se convirtió en el primer fármaco oral para WD, seguido de la disponibilidad de sales de zinc en 1961 y trientina en 1982. Starzl y colaboradores realizaron el trasplante de hígado como último tratamiento clínico para la WD en 1971. En 1993, el gen ATP7B, fue localizado en el cromosoma 13q y se encontró que codificaba una ATPasa de tipo P involucrada en el transporte de cobre (19). En el 8.º Encuentro Internacional sobre la enfermedad de Wilson, Leipzig, Alemania (2001) se diseñó una puntuación para mejorar la precisión en el diagnóstico de esta enfermedad basado en datos clínicos, bioquímicos, moleculares y genéticos disponibles hasta el momento (20)

3.2 Epidemiología

Se transmite con un patrón de herencia autosómico recesivo. La prevalencia reconocida mundialmente es 1:35 000, aunque es diferente en las diversas poblaciones estudiadas (21). Dos estudios epidemiológicos realizados en Alemania y Japón en la década del 70 indicaron una prevalencia de WD de 29 por 1,000,000 y 33 por 1,000,000, respectivamente (22,23). Hu y colaboradores, encontraron en 2010, en un estudio poblacional en la provincia china de Hanshan

una prevalencia de 58,7 por 1.000,000 (24). Estudios epidemiológicos realizados en comunidades insulares informaron una frecuencia en islas Canarias (España): 1 por 2,600; Cerdeña (Italia) 1 por 7,000) (5,12,25). En un estudio realizado en el Reino Unido, la frecuencia calculada de portadores de alelos ATP7B patógenos mutantes fueron de aproximadamente 1 por cada 7,000 individuos, con mutaciones heterocigotos de hasta el 2,5 % en la población general (5).

La baja prevalencia de casos reportados de la WD, puede relacionarse con el subdiagnóstico de la misma, debido a su variable presentación que conduce a un diagnóstico insuficiente y erróneo, a la baja sensibilidad de ciertas pruebas del metabolismo del cobre y a la penetrancia clínica desconocida relacionada con la edad de aparición de las manifestaciones clínicas dadas por las mutaciones de ATP7B. Con el aumento del conocimiento de WD entre los médicos y la disponibilidad creciente de pruebas genéticas, el número de pacientes diagnosticados parece estar aumentando (21). Sin embargo, los nuevos métodos genéticos que incluyen la secuenciación completa del gen ATP7B son costosos y no están disponibles en todos los países (26).

En cuanto a la mortalidad, los datos en pacientes presintomáticos con WD que cumplen con el tratamiento son comparables a los de la población general (11). Sin embargo, en la población enferma (independientemente de la adherencia, los síntomas clínicos, la etapa inicial de la enfermedad o el tipo de tratamiento), los estudios generalmente muestran que las tasas de mortalidad en estos pacientes son más altas (5–6,1 %) que en los controles sanos (26–28). En conclusión, la presencia de enfermedad hepática y neurológica avanzada, así como la falta de adherencia al tratamiento por los efectos secundarios afectan la supervivencia.

3.3 Fisiopatología

El cobre es un oligoelemento esencial para el ser humano. Funciona como cofactor para muchas enzimas y proteínas, interviene en la movilización del hierro, en la desintoxicación de radicales libres y en la creación de uniones celulares. Su exceso puede llegar a ser tóxico por la gran capacidad oxidativa que posee. La ingesta total diario promedio de cobre es de 1-3 mg siendo absorbida del 10 al 50 % de esta cantidad. En el intestino delgado pasa al interior del enterocito por la proteína de transporte de cobre 1 (CTR1) y, posteriormente, al torrente sanguíneo con la proteína ATP7A para ligarse a la proteína albúmina y aminoácidos. La cantidad total de cobre en el organismo es de 50 a 150 mg (3).

La mutación ATP7B y la inactivación del transportador ATP7B dan como resultado falla en la excreción biliar de cobre que conduce a la homeostasis del cobre alterada. ATP7B también es responsable del transporte de cobre para la síntesis de ceruloplasmina funcional que resulta en su nivel sérico disminuido. En WD, los niveles de cobre sérico total pueden disminuir debido a la baja formación de ceruloplasmina; sin embargo, los niveles de cobre no unido a ceruloplasmina tóxicos a menudo son elevados (12). La sobrecarga hepática y sistémica de cobre tóxico es la principal causa de daño tisular y los síntomas clínicos en WD.

La causa principal de los síntomas clínicos en la enfermedad de Wilson son los cambios patológicos en los tejidos provocados por los efectos tóxicos del exceso de cobre (29). El cobre lábil no ligado a ceruloplasmina (es decir, el conjunto de iones ligados libremente a la albúmina y otras moléculas que pueden participar fácilmente en reacciones químicas) presente en la sangre, es absorbido de manera continua por prácticamente todos los tejidos, posiblemente a través de la proteína CTR1 y el transportador de metal divalente (DMT1). Este último aparentemente transporta iones de cobre por vía intracelular incluso en exceso (30).

La toxicidad del exceso de cobre en los tejidos es presumiblemente una consecuencia de su actividad redox que conduce al estrés oxidativo y al daño posterior de los lípidos, proteínas, moléculas de ADN y ARN (30). Otros posibles mecanismos de toxicidad del cobre incluyen la inducción de apoptosis mediante la activación de la esfingomielinasa ácida, que desencadena la liberación del mensajero secundario apoptótico ceramida (31), así como la inhibición directa de las actividades enzimáticas a través de su unión no específica a los grupos tiol de proteínas (32,33). A nivel subcelular, las mitocondrias son los objetivos más sensibles para la toxicidad inducida por cobre (2,34).

3.4 Homeostasis de cobre

El cobre es esencial para la fisiología humana: el cobre sirve como un cofactor de enzimas que están involucradas de manera crítica en la respiración (citocromo c oxidasa), activación de péptidos neuroendocrinos (peptidil- α -monooxigenasa), pigmentación (tirosinasa), síntesis de catecolaminas y depuración (dopamina, β -monooxigenasa), defensa radical (superóxido dismutasas [SOD], SOD1 y SOD3) y muchos otros procesos celulares (16). En la sangre, la ceruloplasmina, principal proteína que transporta cobre, contiene seis átomos de éste por molécula (holoceruloplasmina), pero puede estar presente como la proteína sin el cobre (apoceruloplasmina).

El consumo normal en la dieta y la absorción de cobre, contribuido principalmente por legumbres, papas, nueces y semillas, chocolate, carne de res, vísceras y mariscos (35), normalmente, exceden la demanda metabólica y los niveles apropiados se controlan mediante la regulación de la excreción biliar de cobre (12,36). Sin embargo, estos mecanismos homeostáticos son afectados en la enfermedad de Wilson.

El equilibrio de cobre normalmente se mantiene mediante una red de proteínas, que incluye transportadores de cobre transmembrana, proteínas portadoras de cobre citosólicas, moléculas de almacenamiento de cobre (metalotioneínas) y enzimas que requieren cobre. Además, las proteínas que no se unen directamente al cobre, sino que regulan la abundancia o actividad de las proteínas de unión / transporte del cobre también contribuyen a la homeostasis del cobre celular. Esta red reguladora incluye proteínas adaptadoras, quinasas, componentes de la maquinaria de tráfico celular, así como proteínas de unión a ADN y ARN. Los mecanismos que regulan la homeostasis del cobre son específicos de las células y los tipos de células difieren significativamente en la abundancia, distribución y comportamiento celular de sus principales moléculas homeostáticas de cobre y sus reguladores. Sin embargo, el mismo conjunto de proteínas del núcleo regula la homeostasis del cobre en la mayoría de las células (26).

El cobre ingresa principalmente a las células a través del transportador de cobre de alta afinidad 1 (CTR1) (37–39). Chaperonas de cobre, por ejemplo, copper chaperon for superoxide dismutase (CCS) y la proteína antioxidante 1 (Atox1), envían el cobre a objetivos intracelulares específicos. ATP7A y ATP7B transportan cobre a la red trans-Golgi para su posterior incorporación en enzimas dependientes de cobre y a la membrana celular para la excreción de cobre que esté presente en exceso.

Los hepatocitos del hígado son el sitio de dos procesos fisiológicos importantes que involucran el cobre: primero, la ATP7B proporciona cobre para su incorporación en la apoceruloplasmina para la síntesis de ceruloplasmina funcional; en segundo lugar, la ATP7B facilita el proceso de excreción de cobre biliar. La inactivación de ATP7A (el gen asociado con la enfermedad de deficiencia de cobre cerebral, o enfermedad de Menkes) o ATP7B produce un marcado desbalance de cobre, junto a la inactivación de enzimas específicas dependientes de cobre, y se manifiesta clínicamente como Menkes o WD, respectivamente.

Además, el síndrome de MEDNIK (retraso mental, enteropatía, sordera, neuropatía, ictiosis y queratodermia) está causado por mutaciones en el gen de una proteína adaptadora que participa en el tráfico intracelular de ATP7A y ATP7B (26,39).

Las mitocondrias utilizan el cobre celular para la respiración y también son reguladores clave del equilibrio del cobre celular (40). No está claro cómo se distribuye el cobre entre las proteínas de cobre citosólicas y las proteínas de unión a cobre en las mitocondrias. Un modelo sugiere que un gradiente de afinidades de unión proteína-cobre y, presumiblemente, la abundancia relativa de proteínas regula la división del cobre entre las proteínas citosólicas (41). Las mutaciones inhibitorias en las proteínas SCO1 y SCO2, que facilita la incorporación de cobre en el citocromo c oxidada, dan como resultado una disfunción mitocondrial y una homeostasis celular de cobre alterada (40). El conocimiento de la red homeostática de cobre en general continúa expandiéndose, y su conexión con numerosos procesos celulares se hace cada vez más evidente.

Recientemente, se han descubierto nuevas funciones para el cobre en los procesos fisiológicos normales y en la fisiopatología de la enfermedad. Por ejemplo, se ha hecho evidente que el desequilibrio de cobre es un factor que contribuye a la inestabilidad homeostática lipídica (42,43). El metabolismo lipídico anormal asociado con una sobrecarga de cobre o una deficiencia se observa comúnmente en trastornos como WD, NAFLD y diabetes (42,44–46). Además, los procesos fisiológicos importantes, como el ensamblaje de quilomicrones, angiogénesis, la mielinización de las neuronas, la cicatrización de las heridas y la respuesta inmune dependen de la homeostasis del cobre (47–50). El papel del cobre en la proliferación celular y la angiogénesis está encontrando sus primeras aplicaciones en la práctica clínica como el agente de unión a la proteína de cobre (tetratiomolibdato), se está evaluando en pacientes con cáncer (51).

3.4.1 Hígado

En el hígado, en condiciones normales el cobre introducido por CTR1 se une a ligandos de bajo peso molecular, como glutatión, metalotioneínas y chaperona HAH1 (también llamado Atox1). Atox1 sirve de almacenamiento transitorio hasta su cesión al transportador ATP7B, que lo internaliza desde el citoplasma al aparato de Golgi donde cede a cada molécula de apoceruloplasmina seis átomos de cobre y la transforma en holoceruloplasmina pasando al plasma. Cuando el cobre está en exceso en el interior del citoplasma, el transportador ATP7B modifica su situación y se coloca en una zona post-Golgi donde facilita la eliminación de vesículas con alto contenido de cobre al canalículo biliar. El cobre transportado en la bilis no se recupera por la circulación enterohepática. Cuando la cantidad de cobre intracitoplasmática es normal, el ATP7B vuelve a ocupar su situación previa, trans-Golgi. Así, el transportador ATP7B tiene una doble función, introducir el cobre en el aparato de Golgi y fijarlo a la apoceruloplasmina y, por otra parte, facilitar su excreción biliar en situaciones de exceso (3).

El hígado tiene la mayor expresión tisular del transportador de cobre ATP7B y es el órgano central que regula el equilibrio sistémico de cobre. El deterioro de la excreción biliar de cobre causada por la disfunción de ATP7B conduce a la acumulación hepática de cobre. La lesión hepática es, por lo tanto, la manifestación más temprana y frecuente de WD. La concentración de cobre hepático en pacientes con WD generalmente aumenta en un factor de 5 a 20 en comparación con individuos sanos. El cobre no se distribuye homogéneamente dentro del hígado y su localización celular también varía durante la progresión de la enfermedad. En las etapas iniciales, está presente difusamente en el citoplasma de los hepatocitos unidos a las metalotioneínas, proteínas ricas en cisteína con la capacidad de unirse, almacenar y desintoxicar metales pesados. En etapas posteriores, el cobre se acumula en los lisosomas y puede ser detectable por la rodamila y la orceína (52). Las alteraciones mitocondriales severas en los

hepatocitos se pueden detectar temprano en el curso de la enfermedad (53). El daño mitocondrial puede provocar un deterioro del metabolismo de la energía hepatocítica y la regulación negativa de los genes implicados en la biosíntesis del colesterol, que contribuyen a la esteatosis hepática. La lesión crónica de los hepatocitos y la muerte celular en última instancia conduce a cambios inflamatorios (hepatitis) y a la acumulación neta de matriz extracelular (fibrosis) dentro del hígado. En particular, la apoptosis es una causa importante de pérdida de hepatocitos y puede desencadenarse por el citocromo C liberado de las mitocondrias dañadas o por la activación de la esfingomielinasa ácida y la liberación de ceramida (53,54). Se pueden observar varios tipos de patología hepática mediante microscopía óptica, incluidos los núcleos hepatocíticos glucogenados (es decir, inclusiones intranucleares ópticamente claras debido al alto contenido de glucógeno con membrana acentuada), cuerpos de Mallory-Denk (es decir, inclusiones celulares compuestas de elementos citoesqueléticos mal plegados que incluyen queratina y unión a ubiquitina proteína p62), inflamación portal y lobular en combinación con esteatosis focal o difusa de hepatocitos (55). En general, los hallazgos microscópicos en WD no son específicos; en la etapa inicial, la patología hepática puede parecerse notablemente a la acumulación de grasa en el hígado (NAFLD). Con daño progresivo, típicamente se desarrolla fibrosis hepática inespecífica y, posteriormente, cirrosis macronodular.

Durante la progresión de la enfermedad, cuando la capacidad de almacenamiento de los hepatocitos para el cobre se agota, el cobre ingerido y absorbido no puede ser tomado por el hígado y la cantidad de cobre lábil no unido a ceruloplasmina aumenta en el torrente sanguíneo (56). Poco a poco, el cobre liberado de los hepatocitos se acumula progresivamente en otros órganos, especialmente en el cerebro, los ojos, los riñones, los huesos y el corazón, ejerciendo toxicidad extrahepática (30).

3.4.2 Cerebro

La concentración de cobre en el cerebro en pacientes con WD puede alcanzar valores de 10 a 15 veces mayores en comparación con los sujetos de control (57,58). La asociación entre la concentración de los depósitos de cobre y el daño al tejido cerebral se confirmó en un estudio de tejidos cerebrales provenientes de 11 pacientes con WD, que mostró un alto grado de correlación entre el contenido de cobre cerebral y la gravedad neuropatológica (58). En primer lugar, el efecto tóxico del cobre es amortiguado por los astrocitos; al absorber el exceso de cobre, aumentan en número (astrogliosis), sufren inflamación celular y aumentan la síntesis de metalotioneína para aumentar su capacidad de almacenamiento de cobre (58,59). La exposición a largo plazo a altas concentraciones de cobre finalmente resulta en astrocitos dañados, disfunción de la barrera hematoencefálica y aflicción de otros tejidos cerebrales, incluidas las neuronas y los oligodendrocitos.

Aparentemente, distintas regiones del cerebro tienen una clara susceptibilidad a la toxicidad del cobre. Los cambios patológicos, que incluyen astrogliosis, desmielinización y desintegración de tejidos (que van desde un cambio histológico leve hasta una necrosis total), se informan con mayor frecuencia en los ganglios basales, el tálamo, el cerebelo y el tronco encefálico superior; estas anomalías se representan como lesiones hiperintensas T2 en la resonancia magnética (MR). La desmielinización afecta particularmente a los haces que pasan a través de los ganglios basales y las fibras pontinas (60,61). En los ganglios basales, con frecuencia están presentes cambios inflamatorios con la acumulación de macrófagos pesados cargados de hierro. Las lesiones hipointensas T2 en la RM se asocian con un aumento de los depósitos de hierro. El putamen es la región cerebral más frecuentemente afectada y severa en la WD, con lesiones relacionadas principalmente con distonía, parkinsonismo y depresión (62). La disfunción de las vías cortico-estriatales puede conducir a síntomas psiquiátricos y

déficits cognitivos que afectan principalmente al dominio ejecutivo (63). El mesencéfalo dorsal, en particular la vía dentada-rubrotalámica, es otra estructura frecuentemente afectada y su lesión puede estar asociada con fuertes temblores (64). Las lesiones en la corteza y la sustancia blanca subcortical solo se informan escasamente en pacientes tratados. Estas lesiones pueden estar asociadas con convulsiones epilépticas (65). Además de la toxicidad del cobre, la encefalopatía hepática puede contribuir a los síntomas neuropsiquiátricos en la WD. Esto se ve respaldado por la semejanza de anomalías neuropatológicas, como la presencia de astrocitos anormales conocidos como glía tipo Alzheimer, así como hallazgos específicos de MRI, es decir, hiperintensidades T1 bilaterales, en WD y encefalopatía hepática. Las anomalías retinianas morfológicas y funcionales se observan en la WD y están asociadas con la gravedad de la patología cerebral detectada por la RM y con el deterioro neurológico (66,67).

3.4.3 Córnea

El cobre acumulado al no ser excretado se deposita en prácticamente todos los tejidos, especialmente hígado, cerebro, riñones y córnea (68). En 1902 Kayser y 1903 Fleischer, describieron el característico anillo corneal que lleva sus nombres alguno años antes que Kinneer Wilson describiera exhaustivamente la enfermedad en 1912 (69). El anillo tiene una característica coloración café verdosa en el margen externo de la córnea y es considerado diagnóstico de la enfermedad, está presente en prácticamente todos los casos de presentación neurológica y entre 70-90% de la forma hepática (20).

El anillo puede ser visto a simple vista, pero es necesario el examen con lámpara de hendidura para confirmar su presencia en casos dudosos. Existen otros cuadros que pueden provocar un anillo similar: cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa, colestasia intrahepática progresiva de la infancia. La densidad del

anillo se asocia con la duración de los síntomas y su desaparición refleja en general una buena respuesta terapéutica a los fármacos quelantes o al trasplante hepático. El anillo desaparece en forma inversa a como se formó, es decir, desaparece primero centralmente y finalmente lo hacen los polos superior e inferior (68).

3.4.4 Otros órganos

La fisiopatología de la WD en otros órganos ha sido menos investigada que la del tejido cerebral. La rápida liberación de cobre causada por la necrosis de hepatocitos en masa en la WD puede conducir a un gran aumento de sus niveles sanguíneos en cuestión de días y, por lo tanto, puede simular una intoxicación aguda por cobre. Se manifiesta como anemia hemolítica Coombs negativo, acompañada de forma variable por rabdomiólisis (descomposición del tejido del músculo esquelético) y daño tubular renal (70–72). El mecanismo de la hemólisis y la rabdomiólisis no está dilucidado completamente. En los eritrocitos, el cobre puede reaccionar con los lípidos de la membrana, así como inhibir los grupos sulfhídricos del glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la glutatión reductasa; estos procesos pueden reducir la capacidad antioxidante celular, lo que en última instancia puede conducir al daño oxidativo de la hemoglobina y la membrana celular (73,74). La rabdomiólisis aguda puede ser el resultado de la inhibición inducida por cobre de la actividad $\text{Na}^+ / \text{K}^+ \text{-ATPasa}$ en las fibras musculares (75). La leucopenia y la trombocitopenia son hallazgos frecuentes en pacientes con WD, que pueden atribuirse a secuestro esplénico en pacientes con hipertensión portal (76,77).

El cobre no unido a ceruloplasmina en el suero se filtra por el epitelio tubular renal y se excreta a través de la orina. El exceso de cobre en el parénquima renal puede causar disfunción tubular renal (78). En la WD, se han observado cambios

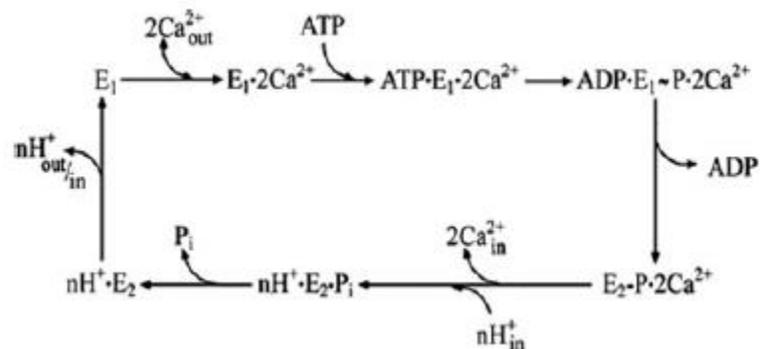
patológicos en la estructura ósea, como la osteomalacia y la osteoporosis, con una mayor incidencia de fracturas espontáneas (79). Se ha sugerido que la acumulación de cobre en la membrana sinovial y el cartílago es la causa principal de la osteoartritis y los cambios degenerativos acelerados con deformidades que afectan articulaciones particularmente más grandes (80). Además, la acumulación de cobre en el miocardio puede causar miocardiopatía y arritmias. El examen cardíaco patológico ha mostrado fibrosis intersticial y de reemplazo, esclerosis intramiocárdica de pequeños vasos e infiltración focal de células inflamatorias (81).

3.4.5 Genética de ATPasas tipo P

La superfamilia de las ATPasas de tipo P comprende enzimas unidas a la membrana que utilizan la energía potencial de ATP para el transporte activo de iones. La denominación de tipo P se refiere a la fosforilación (alcalina y estable al ácido) de un residuo de aspartato por ATP dentro del sitio catalítico (82–85). Esta reacción de fosforilación es un paso intermedio para la transducción de energía y los iones unidos al desplazamiento vectorial, antes de la escisión hidrolítica de Pi. ATP7B contiene los siguientes dominios funcionales: seis dominios de unión de cobre (NMBD), estos son necesarios para la función transportadora de cobre, un dominio de activación catalítica (dominio A), que incluye los residuos de aminoácidos 837–864; que contienen un motivo Thr-Gly-Glu, involucrado en la transducción de la energía por hidrólisis de ATP para transporte de cationes, un canal de cationes y dominio de fosforilación (dominio P) que incluye los residuos de aminoácidos 971–1.035; que contiene el motivo altamente conservado Asp-Lys-Thr-Gly-Thr, un dominio de unión a nucleótidos (dominio N), que incluye los residuos de aminoácidos 1.240-1.291, que contiene el motivo Ser-Glu-His-Pro-Leu y ocho secuencias transmembrana hidrofóbicas (TMBS 1-8), en una de las cuales (región 6) es la secuencia Cys-Pro-Cys encontrada en todas las ATPasas de tipo P. La transducción de energía ocurre a través de un mecanismo de largo alcance,

que incluye cambios secuenciales de conformación de proteínas, lo que permite la unión de cationes con alta afinidad en un lado de la membrana, seguido de desplazamiento vectorial y liberación con menor afinidad desde el otro lado (figura 1) (82–85).

Figura 1. Diagrama esquemático de reacciones secuenciales en el ciclo catalítico de la ATPasa de Ca^{2+}



Tomado de: Lewis y Cols. (2012). Distinctive Features of Catalytic and Transport Mechanisms in Mammalian Sarco-endoplasmic Reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA) and Cu^{+} (ATP7A/B) ATPases.

La caracterización detallada de las ATPasas tipo P involucradas en el transporte activo de Na^{+} o Ca^{2+} es favorecida por su abundancia natural en las membranas nativas, lo que ha permitido estudios bioquímicos y cristalográficos. Además, las concentraciones de iones alcalinos y alcalinotérreos dentro de los compartimentos delimitados por membrana son bastante altas ($0.1 \mu\text{M}$ - mM), lo que permite estimar las concentraciones de iones libres y los gradientes electroquímicos transmembrana, así como las determinaciones estequiométricas de iones unidos mediante el uso de trazadores radiactivos. Por otro lado, la caracterización de las

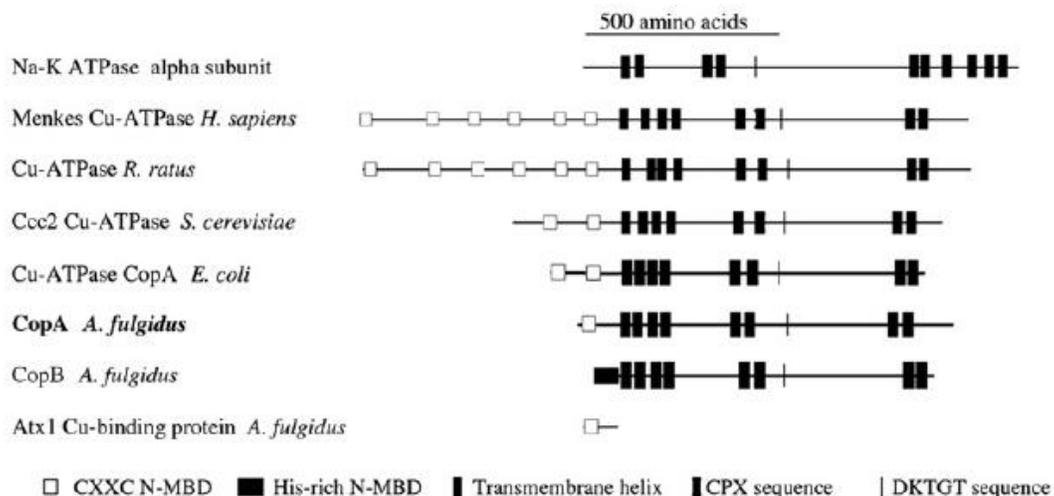
P-ATPasas de iones de metales de transición ha sido más difícil debido a las bajas cantidades de estas enzimas en las membranas nativas y a las concentraciones extremadamente bajas de iones de metales de transición (por ejemplo, el cobre) dentro de los líquidos intra y extracelulares. Además, la fisiología de la homeóstasis del metal en la transición citosólica es bastante compleja, ya que involucra transportadores tales como proteínas chaperonas, que entregan iones a las P-ATPasas en un lado de la membrana y las reciben del otro lado (86–91).

Las Cu^{+} -ATPasas contribuyen a la homeóstasis bacteriana a través de su participación en la desintoxicación de Cu^{+} y el ensamblaje de cuproproteínas. Las contribuciones originales y fundamentales a la caracterización de las ATPasas de cobre bacteriano se obtuvieron mediante el uso de *Archaeoglobus fulgidus* CopA termofílica como una proteína modelo dentro de la subfamilia de ATPasas de tipo PIB. La caracterización funcional [19] de la proteína clonada y expresada heteróloga indicó que esta enzima CopA es activa a alta temperatura (75°C) en presencia de Ag^{+} o Cu^{+} , utilizando ATP mediante la formación de un ácido intermedio estable y continuando con la actividad hidrolítica. a una tasa máxima de $3.66\ \mu\text{mol} / \text{mg} / \text{h}$ en presencia de Cu^{+} (92).

Una comparación (Figura 1) de ATPasas de tipo PIB con la subunidad α de $\text{Na}^{+} / \text{K}^{+}$ -ATPasa (una ATPasa de tipo PII típica) muestra que *A. fulgidus* CopA es una proteína de 804 aminoácidos que coincide con el patrón topológico típico de otros -ATPasas tipo PIB, con una gran asa citoplasmática que contiene la secuencia DKTGT (como en el tipo PII) y ocho segmentos transmembrana (en lugar de diez como en el tipo PII). Los residuos invariables en la región transmembrana (dos residuos de cisteína y una tirosina para el sitio I, y una asparagina, una metionina y una serina para el sitio II) contribuyen a dos TMBS de alta afinidad, cuya ocupación simultánea es necesaria para el recambio enzimático(93,94) (Figura 2). Además, el *A. fulgidus* CopA tiene un NMBD (dominio de unión a metal N-terminal) con un único lugar de unión a Cu^{+} (CXXC) en el N-terminal, que no está presente

en las ATPasas de tipo PII. El NMBD aumenta en longitud, con un mayor número de lugares de unión a Cu⁺ en otras ATPasas de tipo PIB, hasta seis en enzimas eucariotas (Figura 2). La microscopía crioelectrónica de los cristales tubulares bacterianos de CopA revela que el NMBD interactúa con el sitio citosólico, lo que sugiere un efecto dependiente de cobre en el papel regulador de la NMBD(95).

Figura 2. Topología de membrana y disposición secuencial de dominios funcionales conservados de CPx-ATPasas



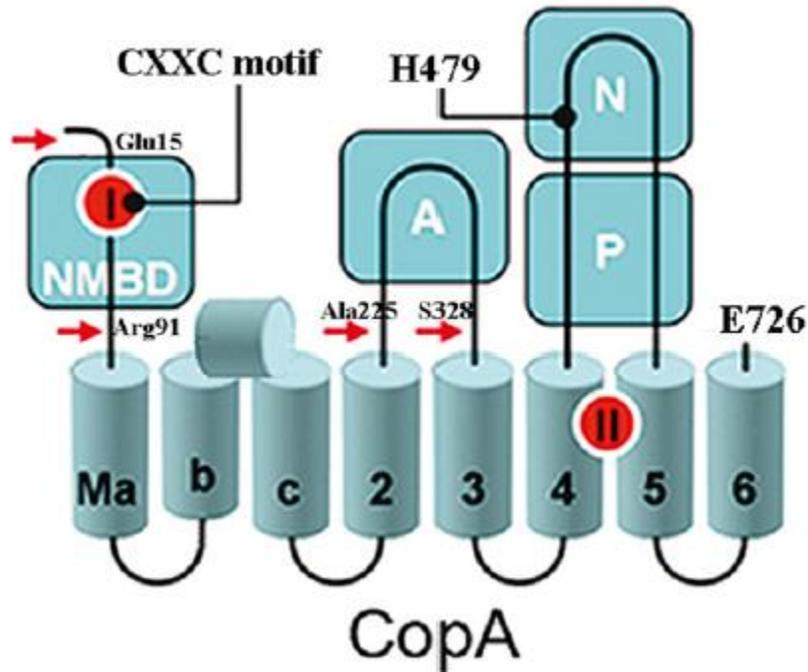
Fuente: Mandal, A.K., Cheung, W.D. and Argüello, J.M. Characterization of a thermophilic P-type Ag⁺/Cu⁺-ATPase from the extremophile *Archaeoglobus fulgidus*. Journal of Biological Chemistry. 2002.

Con respecto a la estructura de la proteína, los primeros estudios cristalográficos, utilizando dominios aislados de *A. fulgidus* Cu⁺-ATPasa, identificaron características del dominio principal, como el sitio ("A") y dominios de unión a ATP ('N'), análogos a los del tipo PII ATPasa(96–98)

Como sugiere el análisis de secuencia, presentado en la figura 3, el diagrama 2D esquemático de la estructura de alta resolución muestra un casco con tres

dominios (N, P y A) que están presentes en otras ATPasas de tipo P. Sin embargo, hay ocho segmentos transmembrana (en lugar de diez como en ATPasas tipo PII, es decir, ATPasa Ca²⁺), con tres segmentos transmembrana N-terminales considerados específicos y denominados MA, MB y MC (o M1), seguidos de M2, M3, M4, M5 y M6 en interfaz con el casco en analogía con las ATPasas tipo PII. Además, aunque en las ATPasas tipo PII el dominio A interactúa con el primer, segundo y tercer segmento transmembrana, el dominio A de la ATPasa de cobre interviene solo entre los segmentos transmembrana M2 y M3, sin interfaz con MC (M1 en PII-ATPasa terminología). Además, MB incluye una hélice anfipática enroscada colocada en la superficie de la membrana citosólica. Esta hélice transmembrana específica de PIB se dobla en un sitio doble glicina que muestra una hélice anfipática que recubre un supuesto punto de entrada de cobre en la interfaz citosólica (84).

Figura 3. Diagrama plegable de la secuencia (bacteriana) de *T. maritima* CopA



Fuente: Lewis y Cols. (2012). Distinctive Features of Catalytic and Transport Mechanisms in Mammalian Sarco-endoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) and Cu⁺ (ATP7A/B) ATPases. La secuencia de longitud completa comprende 726 aminoácidos, incluido un NMBD, seguido de cuatro segmentos transmembrana muy separados (Ma, Mb, Mc y M2) y un dominio A extramembranoso. El segmento continúa con dos segmentos transmembrana (M3 y M4), una gran región, que incluye los dominios N y P, y dos segmentos transmembrana estrechamente separados (M5 y M6) en el extremo C. Una MB más corta

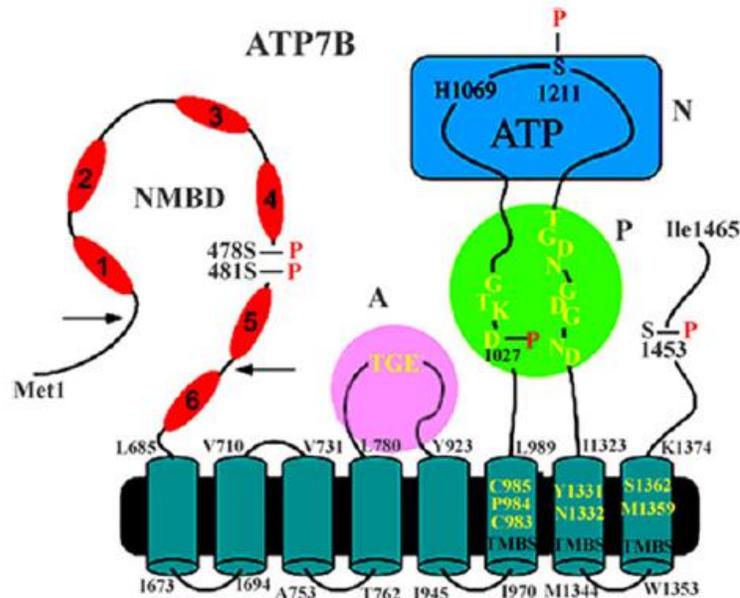
La identidad e importancia de las ATPasas de cobre de tipo P humano se observó por primera vez en el análisis genético de pacientes afectados por la enfermedad de Menkes, que demuestra anomalías en un gen relacionado con ATPasas de transporte de cationes tipo P(99). Esta enzima se denominó ATP7A. También se informó que el gen responsable de la enfermedad de Wilson codifica una ATPasa de transporte de cobre que tiene homología con el gen de la enfermedad de Menkes (100). Esta enzima se denominó ATP7B.

Está claro que las dos enzimas juegan un papel esencial en la fisiología celular, ya que están involucradas en la transferencia de cobre dietario de los enterocitos a la sangre, la exportación de cobre del hígado a la bilis, mantienen el cobre intracelular por debajo de los niveles tóxicos mediante la translocación del citosol a través de la membrana celular y contribuyen a la biosíntesis de proteínas mediante la entrega de cobre en la luz de la vía secretora donde el ion metálico se incorpora a las enzimas dependientes de cobre. Las propiedades importantes de estas enzimas están relacionadas con su tráfico entre la red trans-Golgi y las vesículas exocíticas ubicadas en o cerca de la superficie celular apical (ATP7B) o basolateral (ATP7A).

La interacción con otras proteínas y la implicación de las quinasas de señalización parecen estar involucradas en la función de activación y el tráfico de cobre ATPasas de mamíferos (101).

La estructura de las ATPasas de cobre de mamíferos (Figura 4), en analogía con las ATPasas de cobre bacterianas [45], comprende un casco con los dominios N, P y A y motivos catalíticos conservados, y ocho segmentos transmembrana que incluyen TM4, TM5 y TM6 (102).

Figura 4. Estructura de las ATPasas de cobre de mamíferos



Fuente: Lewis y Cols. (2012). Distinctive Features of Catalytic and Transport Mechanisms in Mammalian Sarco-endoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) and Cu⁺ (ATP7A/B) ATPases. Modelo de plegado en 2D de la secuencia ATP7B (mamífero). El diagrama muestra ocho segmentos transmembrana que incluyen un sitio de unión a cobre (TMBS). Los residuos amarillos en el TMBS probablemente están involucrados en la unión del cobre. La región extra membrana comprende un dominio de unión a nucleótidos (N) con el residuo His1069 cuya mutación se encuentra con frecuencia en la enfermedad de Wilson; el dominio P, con varios residuos (en amarillo) conservados en tipo P ATPasas, donde Asp1027 se somete a fosforilación para formar la fosfoenzima catalítica intermedia (EP); el dominio A con la secuencia conservada TGE (amarilla) involucrada en la asistencia catalítica de escisión hidrolítica EP; el NMBD con seis sitios de unión a cobre; y una cadena C-terminal. Como se sugiere en [46], un segmento anfipático retorcido de la segunda hélice puede superponerse a la superficie de la membrana citosólica. Los residuos de serina sometidos a fosforilación asistida por quinasas (Ser478, Ser481, Ser1121 y Ser1453) residen dentro de bucles flexibles de la proteína

3.4.6 Mutaciones en ATP7B

Como se mencionó anteriormente, la WD es una enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones que afectan el gen ATP7B, localizado en la región

cromosómica 13q14.3 – q21.1, que contiene 20 intrones y 21 exones(103). Se han descrito alrededor de 700 mutaciones de acuerdo con The Human Gene Mutation Database (4,104) y los pacientes pueden ser homocigotos para una mutación causante de la enfermedad o portar dos mutaciones diferentes, conocido como heterocigotos compuestos(105,106) . Las mutaciones pueden afectar a casi todos los 21 exones y con frecuencia son de sentido erróneo o sin sentido. La mutación de sentido erróneo H1069Q en el exón 14 es muy común. Alrededor del 50–80% de los pacientes con WD de Europa Central, del Este y del Norte tienen al menos un alelo con la mutación H1069Q. En el sur de Europa, otras mutaciones son comunes, como la mutación de sentido erróneo M645R en el exón 6 en la España continental(107). El R778L en el exón 8 se encuentra con mayor frecuencia en el sudeste asiático, donde la mutación tiene una frecuencia de alelo de 14 a 49%(10). Ambas mutaciones causan niveles disminuidos de proteína ATP7B asociados con una mayor degradación de la misma(108).

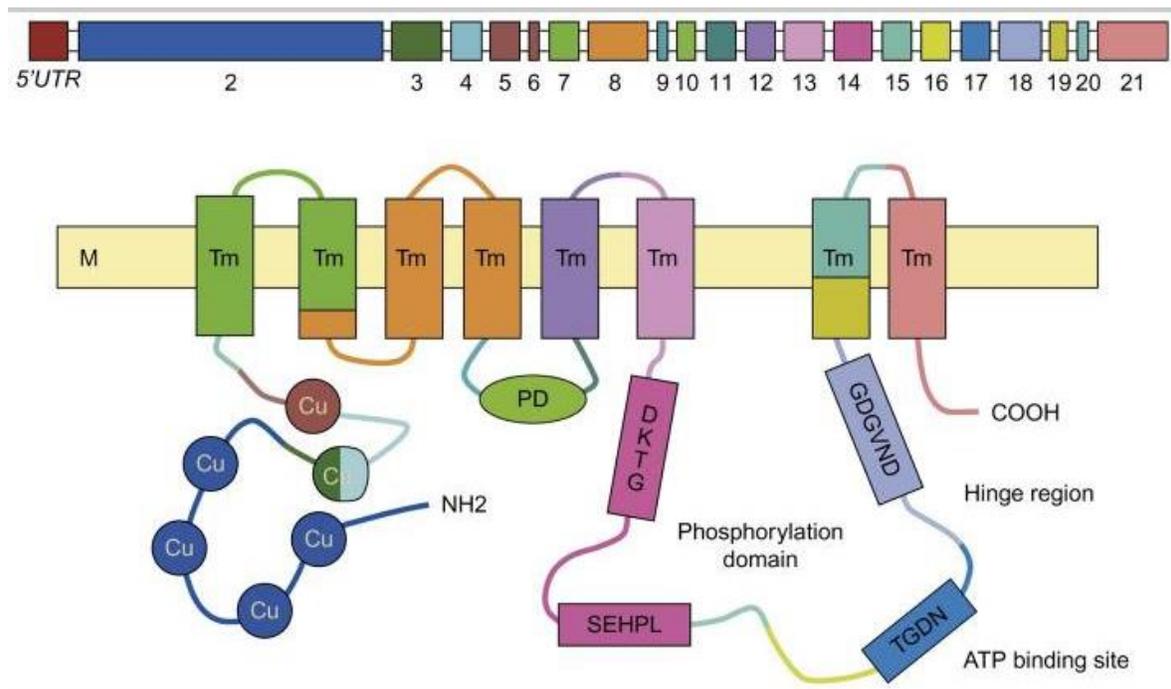
Varios estudios han intentado la difícil tarea de correlacionar el genotipo con el fenotipo. Algunos experimentos in vitro han demostrado que diferentes variantes de ATP7B presentan diferentes propiedades funcionales con una actividad variable del transportador de cobre (109). Estudios realizados en la década de 2000 sugirieron que la homocigosidad de la mutación H1069Q lleva a una presentación neurológica más tardía y más frecuente que las presentaciones heterocigotos H1069Q (109,110). Las mutaciones truncadas de ATP7B se han asociado con insuficiencia hepática aguda y una edad más temprana de aparición de la enfermedad (111,112). Sin embargo, a pesar de estos y otros estudios realizados en poblaciones pequeñas que intentan correlaciones de genotipo a fenotipo no han sido concluyentes (113–115). Esto se debe en parte a la deficiente caracterización fenotípica de los pacientes, el diagnóstico tardío y los signos y síntomas neurológicos, psiquiátricos y hepáticos que se superponen en diversas severidades. Lo más probable es que los factores genéticos y ambientales interactúen para influir en el fenotipo complejo; sin embargo, se requieren estudios

adicionales para proporcionar evidencia concluyente para demostrar asociaciones específicas.

3.4.7 Estructura y función génica

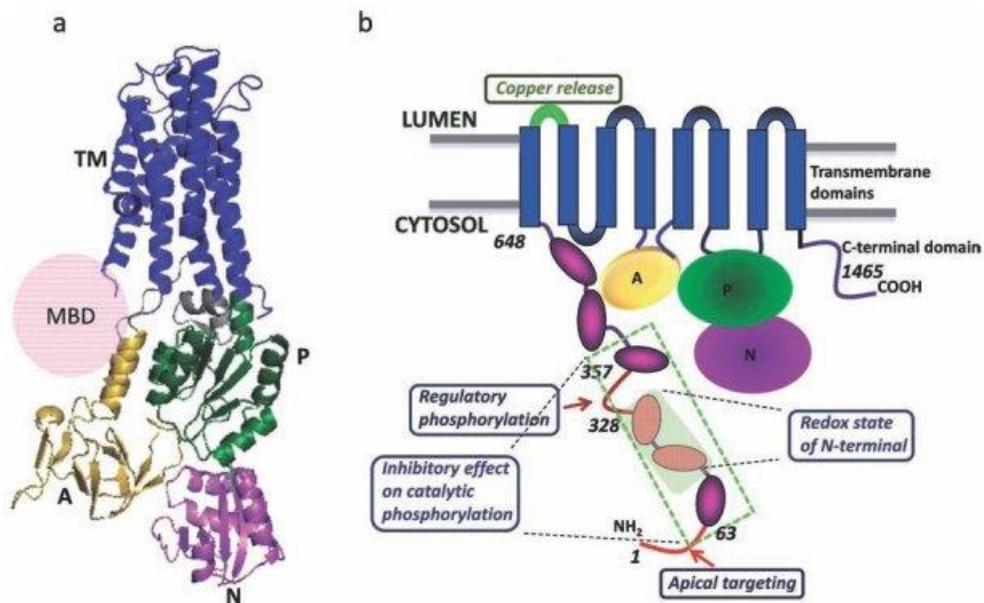
En 1985, Goldwirth y colaboradores informaron que el gen defectuoso causante de la enfermedad de Wilson se localiza en el cromosoma 13 (116). El gen WD (OMIM 277900) fue identificado casi simultáneamente por tres grupos de laboratorios diferentes como el gen ATP7 B(116–118). Este gen codifica para ATPasa transportadora de cobre de tipo P (ATP7B). El gen ATP7B consiste en 21 exones que abarcan 100 kb en el cromosoma 13q14.3, con un marco de lectura abierto de 4,3 kb que codifica una proteína de 1465 aminoácidos, designada ATP7B (119). Lo cual se esquematiza en la figura 5 y 6

Figura 5. Estructura y función de la proteína ATP7B



Representación esquemática del gen ATP7B y la proteína ATP7B humana correspondiente. El diagrama superior muestra la región promotora 5'UTR y los exones separados por intrones. El diagrama inferior muestra la organización del dominio de la ATPasa de cobre humano. Los motivos de aminoácidos conservados están presentes en la estructura central de cada dominio funcional, es decir, SEHPL, TGDN y GDGVND en el dominio N, DKTG en el dominio P y PD en el dominio A. M, bicapa fosfolipídica de la membrana; Cu, los dominios de unión a metales del canal de catión transmembrana; Tm, dominios transmembrana. Fuente: Fanni (120).

Figura 6. Estructura organizacional de la proteína ATP7B



Estructura tridimensional de ATP7B que muestra los dominios transmembrana (azul), el dominio del actuador (amarillo), el dominio de unión a nucleótidos (rosa), el dominio de fosforilación (verde). (b) Se han mostrado los sitios reguladores que son importantes para la regulación y localización de la proteína. El dominio N-terminal (1-648) es el sitio principal para la regulación de la molécula. El bucle luminal que conecta TM1 y 2 (mostrado en verde) es importante para la unión y liberación de cobre (ATP7A). Fuente: Gupta (121).

3.4.8 Distribución geográfica de las mutaciones ATP7B

Como se indicó anteriormente se han identificado alrededor de 700 mutaciones del gen ATP7B en todo el mundo(4,104). p.His1069Gln se considera la mutación más frecuente en Europa central y oriental. Varios investigadores han sugerido que esta mutación podría haber surgido originalmente de Europa del Este (107). Hay una gran diferencia en la prevalencia de esta mutación entre pacientes con enfermedad de Wilson dependiendo de su área geográfica y antecedentes étnicos (122). Por ejemplo, en países europeos, la frecuencia alélica más alta se observa en Polonia (72 %), seguida de Eslovaquia (57 %) y Bulgaria (55,8 %). En otros países europeos con datos disponibles de la mutación, las frecuencias alélicas son las siguientes: Rusia (49 %), Antigua Yugoslavia (48,9 %), Alemania (47,9 %), Hungría (42,9 %), Rumanía (38,1 %), Suecia (38 %), Grecia (35 %), Austria (34,1 %), los Países Bajos (33 %), Reino Unido (19 %), Dinamarca (18 %), Italia continental (17,5 %), Turquía (17.4 %) y Francia (15 %). Sin embargo, ciertos países dentro de Europa exhiben un espectro de mutación diferente. En España, la mutación sin sentido p.Met645Arg (27 %) es la más frecuente, mientras que, en las Canarias la mutación p.Leu708Pro es la mutación predominante (64 %). Otra excepción es Cerdeña, que según se informa tiene una alta prevalencia de WD. En esta región, existe una mutación de delección única en el 5'UTR (c.-441_-427del) con una frecuencia observada del 60,5 % seguido de p.Met822fs (8,5 %) y p.Val1146Met (7,9 %) (30). La mutación p.His1069Gln también se ve en algunos Países de Asia y América del Norte y del Sur.

Estudios comparativos de mutaciones WD realizados en poblaciones de diferentes regiones de la India sugieren una alta heterogeneidad genética y ausencia de un solo o un número limitado de mutaciones de origen común (30). Lo anterior refleja la diversidad étnica del país. En el norte de India, las mutaciones más prevalentes son p.Arg778Trp (19 %), p.Ile1102Thr (12 %) y p.Pro992His (9 %), mientras que en el sur, p.Ala1003Val (11 %), p.Cys271 * (11 %), p.Pro768Leu (9 %) y p.Arg969Gln (9 %) tienen una alta prevalencia. Lo anterior se refleja en el oeste y este de la India. En el este, p.Cys271 * (16 %), p.Gly1061Glu (11 %) y c.1708-1G4C (8.5 %) son las mutaciones más comúnmente observadas, mientras que en el oeste, p.Cys271 * (20 %), p.Glu122fs (11 %), p.Thr977Met y p.Leu795Phe (6 %) son las mutaciones que más predominan (30).

Se podría concluir que la mutación p.Cys271* como la mutación más frecuente observada en la población india, sin embargo, su presencia no se ha informado en el norte (123–126).

En China, el 67 % de las mutaciones WD se encuentran en los exones 8, 12 y 13 (Li y colaboradores. 2011), siendo p.Arg778Leu la mutación más prevalente (28,4–33,8 %). Los dos siguientes son p.Pro992Leu (8,8–11,2 %) y p.Thr935Met (0,86–6,8 %). En Japón, las mutaciones se concentran en los exones 8, 13 e intrón 4, lo que representa el 49 % de ellas (127). Las mutaciones p.Asn958fs (15,9–20 %) seguido de p.Arg778Leu (13,4–20 %) y c.1708-5T4G (10-11%) son los más frecuentes. En Corea del Sur, las mutaciones predominantes en orden decreciente de su prevalencia son p.Arg778Leu (37,9 %), p.Asn1270Ser (12,1 %) y p.Ala874Val (9,4 %). Por lo tanto, la mutación p.Arg778Leu está muy generalizada en toda esa región.(30).

En Arabia Saudí, Al Jumah y colaboradores (128) llevaron a cabo un análisis de ADN de 56 pacientes con WD para identificar su estado de mutación. El análisis genético mostró mutaciones que causan enfermedades en tres exones (exones 8, 19 y 21) del gen ATP7B en el 50 % de los pacientes. Las dos mutaciones más

comunes fueron p.Gln1399Arg (32 %) seguido de p.Ser774Arg (16 %). En un estudio realizado en 2011 en Irán se encontró que la mutación p.His1069Gln es la mutación más prevalente en una población iraní con una frecuencia de alelos del 19 %. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los cuatro pacientes homocigotos en los que se observó esta mutación tenían síntomas hepáticos y tenían entre 5 y 40 años. Esto contrasta con lo que hallado en relación con la mutación p.His1069Gln asociada con enfermedades del SNC y un inicio posterior de la enfermedad (30).

En el continente africano, Egipto es el único país para el que se dispone de datos de mutación WD. En 2011, se realizó la secuenciación del gen ATP7B para 64 niños egipcios. La mutación más común fue IVS18-2A4G (7 %), seguida de p.His1126fs (6,25 %) y p.His1069Gln (5,46 %) (30).

En Brasil, el 62.5 % de las mutaciones se encontraron en los exones 8 y 15, mientras que un estudio en los Estados Unidos reveló que el 84 % de las mutaciones se encuentran en los exones 14 y 18. En los Estados Unidos p.His1069Gln tuvo la mayor prevalencia (40,3 %) seguido de p.Asn1270Ser (1,9 %) y Gly1266Arg (1,9 %). En Brasil las mutaciones más predominantes fueron p.Ala1135fs (30,8–31,7 %) y p.Leu708Pro (15,8–16,7 %) (30).

3.4.9 Otros genes asociados con la enfermedad de Wilson

Diversos estudios han explorado el papel de las proteínas y genes mutados distintos de ATP7B como contribuyentes al fenotipo WD. La proteína PNPLA3 (Patatin-like phospholipase domain-containing 3) está involucrada en el metabolismo de los triglicéridos; una variante de PNPLA3, comúnmente asociada con la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), también se ha asociado con la severidad de la esteatosis hepática en pacientes con WD (129).

La pérdida de función de PNPLA3 se ha relacionado con la acumulación de triglicéridos en los hepatocitos y las células estrelladas hepáticas (células de Ito) (130). Además, se propuso que el alelo ApoE ϵ 4 del gen de la apolipoproteína E (ApoE), que desempeña un papel en el metabolismo de los lípidos y las enfermedades neurodegenerativas, es un modificador del fenotipo WD (131), pero un estudio realizado en 383 individuos con WD mostró que el genotipo ApoE ϵ 4 no tenía asociación ya sea con el fenotipo hepático o neurológico (132). Sin embargo, las mujeres positivas para ApoE ϵ 4 tendían a manifestar la enfermedad a una edad más temprana en comparación con las mujeres con genotipo ϵ 3 / ϵ 3, particularmente cuando también eran homocigotos para la mutación H1069Q. Las mutaciones en el gen COMMD1 (copper metabolism domain containing 1) anteriormente conocido como MURR1, fueron identificadas en el 30 % de 63 pacientes de un estudio realizado en Reino Unido, el cual análogamente ha demostrado su presencia en toxicosis canina por cobre en Bedlington terriers (133). Sin embargo, estudios posteriores sobre diferentes poblaciones no pudieron confirmar estos hallazgos (134,135). La chaperona de cobre Atox1 también ha recibido mucha atención debido a su interacción con ATP7B, pero estudios correlacionales en pacientes con WD no pudieron identificar un papel significativo para las mutaciones ATOX1 (136–138).

3.5 Epigenética

Datos obtenidos de estudios realizados en modelos animales indican que los mecanismos epigenéticos pueden estar involucrados en la patogénesis de WD y su presentación fenotípica. Varios estudios de casos describen gemelos homocigotos con WD que presentan diferentes fenotipos de enfermedad (139–141). Además, el papel potencial de los factores ambientales y nutricionales en los mecanismos epigenéticos ha sido explorado en modelos animales de WD. En la interacción entre la regulación de la expresión génica y el medio ambiente está el

metabolismo de la metionina, que tiene efectos reguladores sobre los mecanismos de metilación (16).

La enzima S-adenosilhomocisteína (SAH) hidrolasa (SAHH) tiene un papel crucial, ya que es responsable de metabolizar la SAH en homocisteína. Si la expresión o actividad de SAHH disminuye, el nivel de SAH, que actúa como un inhibidor de las reacciones de metilación, aumentará. Es importante destacar que la actividad de SAHH y los niveles de transcripción de genes disminuyen en presencia de la acumulación hepática de cobre con los cambios consecuentes en los parámetros del metabolismo de la metionina (142,143). En particular, los modelos de ratón de WD mostraron una desregulación del metabolismo de la metionina y la hipometilación del ADN global en los hepatocitos (144) con posibles efectos en la regulación de los genes implicados en el desarrollo del daño hepático. Además, durante el desarrollo embrionario en este modelo, el hígado fetal de ratón, que es un sitio de reordenamientos importantes de metilación, presentó cambios importantes en los niveles de transcripción de genes relacionados con el ciclo celular y la replicación en comparación con los animales de control. La provisión de colina suplementada con metil-donante fue capaz de mejorar la expresión génica para controlar los niveles, lo que indica que los hígados fetales son susceptibles a factores nutricionales con posibles consecuencias de por vida en el fenotipo y la progresión de la enfermedad(145). Un factor modificador deletéreo del medio ambiente en Brasil es la ingesta oral alta de cobre, a partir de granos, chocolate y café relacionado con manifestaciones neurológicas en pacientes con WD(146,147)

3.6 Manifestaciones Clínicas

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Wilson son muy diversas y están relacionadas con la concentración de cobre depositado. No obstante, los

principales síntomas de consulta suelen ser hepáticos en las primeras fases de la enfermedad y en estadios más avanzados neurológicos y/o neuropsiquiátricos. Algunas veces puede ocurrir que el paciente consulte por síntomas exclusivamente neurológicos, pero estudios posteriores evidencien lesión hepática (3).

3.6.1 Manifestaciones hepáticas

Aproximadamente un tercio de los niños presenta síntomas clínicos relacionados con la EW, especialmente hepáticos. Entre los más frecuentes se encuentran ictericia, epistaxis, dolor abdominal, edema en miembros inferiores y ascitis. La presentación de fallo hepático fulminante ocurre hasta en el 3,5 % de los pacientes. Su base anatomopatológica es de necrosis lobulillar sobre cirrosis. Los niveles de fosfatasa alcalina están significativamente disminuidos y los de bilirrubina más elevados. En estos casos de fallo agudo, el trasplante hepático es la única opción terapéutica que puede evitar el fallecimiento de los pacientes(3).

3.6.2 Manifestaciones neurológicas

El 50 % de adolescentes con enfermedad de Wilson tiene síntomas neurológicos. Su causa es la lesión extrapiramidal o cerebelosa y, clínicamente, se manifiesta con temblor en reposo e intencional, rigidez, exceso de salivación, discinesia, disartria, disfagia, ataxia y movimientos coreiformes. Para obtener la mejor respuesta al tratamiento es captar lo más precozmente posible los signos que permitan sospechar la enfermedad en la fase inicial: Bajo rendimiento escolar, alteraciones sutiles en la movilidad fina, alteraciones en fonética y escritura y/o trastornos del comportamiento. Entre el 10 y el 20 % de los casos, la mayoría pacientes jóvenes y adultos, pueden cursar con manifestaciones psiquiátricas, afectivas, conductuales, neuróticas o incluso psicóticas. La resonancia magnética

cerebral muestra en estos pacientes cambios característicos en los ganglios basales, tálamo y núcleo dentado, junto con atrofia cortical generalizada y aumento del tamaño de los ventrículos.

3.7 Diagnóstico

Se establece por la combinación de manifestaciones clínicas, pruebas de laboratorio y estudio genético. Las manifestaciones clínicas han sido agrupadas en una clasificación fenotípica de la enfermedad que establece la forma de presentación en función de los síntomas predominantes, de tipo hepático y/o neurológico (ver tabla 1).

Tabla 1. Clasificación fenotípica de la enfermedad de Wilson.

Presentación hepática	Presentación neurológica
<i>Pacientes en los que hay sintomatología hepática sin presentación de alteraciones neurológicas.</i>	<i>Pacientes en los que hay síntomas neurológicos y/o psiquiátricos al diagnóstico</i>
H1: Enfermedad de Wilson hepática aguda. Ictericia que incide de forma aguda en un sujeto aparentemente sano, en un contexto de enfermedad semejante a hepatitis o anemia hemolítica Coombs negativa, o una combinación de ambas. Puede progresar a fallo hepático, que preciso trasplante hepático urgente	N1: Asociada con hepatopatía sintomática. Habitualmente los pacientes tienen cirrosis en el momento del diagnóstico de enfermedad de Wilson neurológica. La hepatopatía puede anteceder muchos años a los síntomas neurológicos o ser detectada en el proceso de estudio del paciente con síntomas neurológicos
H2: Enfermedad de Wilson hepática crónica Cualquier tipo de hepatopatía crónica, con o sin síntomas. Puede	N2: No asociada a hepatopatía sintomática. Para documentar la ausencia de una enfermedad hepática avanzada (fibrosis o esteatosis pueden

presentarse, o conducir, a cirrosis descompensada	estar presentes) es necesaria la biopsia hepática –
	NX: no se ha investigado la presencia o ausencia de enfermedad hepática

Fuente: Adaptado de Enfermedad de Wilson. Millán Jiménez y Ruíz Moreno

3.7.1 Pruebas de laboratorio

Las pruebas de laboratorio utilizadas en el diagnóstico de enfermedad de Wilson son: Incremento de transaminasas, con índice de Ritis (ASAT/ALAT) usualmente inferior a la unidad.

– Nivel plasmático de ceruloplasmina, medida por nefelometría, inferior a 20 mg/dl
 Al ser también un reactante de fase aguda, su presencia en plasma puede estar elevada si coinciden procesos inflamatorios o infecciosos. Los heterocigotos para la enfermedad de Wilson no presentan síntomas, aunque hasta el 10 % de ellos muestra cifras descendidas de ceruloplasmina.

Nivel plasmático de cobre total, inferior a 60 µg/dl ya que, al tener poca ceruloplasmina disponible, no se puede transportar con ella y el Cu solo está en plasma como fracción libre, la cual sí está elevada, en nivel superior a 25 µg/dl

Cobre en orina de 24 horas, que es superior a 100 µg, en correspondencia con el aumento de la fracción libre del Cu en plasma. En fases presintomáticas de la enfermedad, la liberación de cobre desde los hepatocitos no es muy elevada y ello puede ocasionar falsos negativos. Por este motivo se aconseja determinarlo tras la administración de dos dosis de 500 mg de D-penicilamina, ingerida con un intervalo de 12 horas, prueba que solo es positiva si el Cu urinario posterior, es superior al menos cinco veces al excretado en condiciones basales.

Cobre hepático, en cantidad superior a 250 µg por gramo de tejido. Esta determinación es, para muchos autores, la mejor prueba inequívoca para el diagnóstico, sobre todo en los casos dudosos. Sin embargo, esta cifra solo la

alcanza el 83 % de los enfermos y puede coincidir, hasta en 1,4 % de pacientes, con otro tipo de hepatopatía. Es posible encontrar enfermos, con enfermedad de Wilson y cirrosis evolucionada, en los que la cifra de Cu tisular sea inferior a la anterior, porque la biopsia incluya nódulos de regeneración en los que el contenido de cobre sea prácticamente nulo. Por otra parte, los heterocigotos pueden presentar cifras entre 50 y 250 µg por gramo de tejido.

En Pediatría, hasta el 80 % de los pacientes pueden diagnosticarse en fases presintomáticas de la enfermedad, al estudiarlos cuando presentan elevación no explicada de transaminasas hepáticas o, también, al hacerlo en los familiares de un caso índice.

En los que no presentan síntomas ni elevación de transaminasas hepáticas el diagnóstico no es fácil, ya que, aunque se sospechara, más del 50 % tiene normales las pruebas diagnósticas habituales, sobre todo la cuprurúa de 24 horas. En este grupo de pacientes siempre hay que determinar el cobre en tejido hepático y, si fuera posible, identificar la mutación responsable. Por otro lado, el estudio patológico de la biopsia hepática evidencia el daño tisular: esteatosis en el 87 % de los casos, hepatitis crónica activa en el 13 % y cirrosis en el 6 %, dependiendo de la edad del paciente.

En cambio, cuando al iniciar el estudio existe elevación de transaminasas, tanto el nivel de ceruloplasmina como los del cobre en sangre y orina suelen ser patológicos. Además, en este grupo de pacientes la biopsia hepática muestra hepatitis crónica activa en el 50 % de los casos y cirrosis con esteatosis en el 36 %

Teniendo en cuenta lo anterior, actualmente, se ha establecido un sistema de puntuación que permite valorar de forma cuantitativa aspectos clínicos, analíticos y la presencia o no de mutaciones. Este sistema de puntuación para el diagnóstico de EW fue desarrollado en la reunión internacional en Leipzig, Alemania en

2001(20). Cuando la suma resultante es superior a cuatro, permite establecerse con seguridad el diagnóstico de dicha enfermedad.

Así, la coexistencia de todas las pruebas enumeradas es determinante para el diagnóstico y necesaria en los casos dudosos. En este sentido, se ha establecido un sistema de puntuación que permite valorar de forma cuantitativa aspectos clínicos, analíticos y la presencia o no de mutaciones.

Tabla 2. Score de Leipzig para el diagnóstico de enfermedad de Wilson

Signo clínico	Puntos
Anillo de Kayser-Fleischer-	
Presente-	2
Ausente	1
Síntomas neuropsiquiátricos sugestivos de enfermedad de Wilson (o imágenes sugestivas en Resonancia Magnética craneal)	
- Graves	2
- Leves	1
- Ausente	0
Anemia hemolítica Coombs negativa-	
Presente-	1
No presente	0
Cobre urinario (en ausencia de hepatitis aguda o colestasis)	
- Normal-	0
1 a 2 veces límite superior de la normalidad-	1
> 2 veces el límite superior de la normalidad-	2
Normal, pero > 5 veces el límite superior de la normalidad tras la administración de D-penicilamina	2
Medición cuantitativa de cobre hepático	
- Normal (< 80 µg/gr)	-1
- Hasta 5 veces el límite superior de la normalidad (80-400 µg/gr)	1
- > 5 veces el límite superior de la normalidad (> 400 µg/gr)	2

Hepatocitos positivos en rodamina (si no se puede realizar medición cuantitativa del cobre)	1
Ceruloplasmina en suero	
- Normal (>20 mg/dl)	0
- 10 a 20 mg/dl	1
- <10 mg/dl	2
Análisis de la mutación	
- Mutación en ambos cromosomas- Mutación en un cromosoma	4
- Ausencia mutación	1

Fuente: 8.º Reunión Internacional sobre la Enfermedad de Wilson (Leipzig 2001)

3.8 Tratamiento

El tratamiento actual se basa en tres aspectos fundamentales: 1) Disminuir el depósito de cobre tisular existente al realizar el diagnóstico y comenzar el tratamiento; 2) Prevenir la acumulación continuada del cobre, tanto en tejido como en sangre; y 3) Conseguir reducir o tratar eficazmente las complicaciones derivadas de las dos situaciones anteriores. La terapia es únicamente para homocigotos, tengan o no síntomas o signos de enfermedad de Wilson, no para heterocigotos por no padecer la enfermedad. El tratamiento debe mantenerse durante toda la vida, ya que no se puede reponer la ceruloplasmina, que sería la terapia adecuada para que no aparecieran las complicaciones vinculadas al metabolismo del Cu. El éxito del tratamiento depende del momento del diagnóstico y de la evolución que haya alcanzado la enfermedad. Por esto es importante dar valor a los síntomas inespecíficos iniciales y a la búsqueda de marcadores en los familiares asintomáticos de los pacientes diagnosticados (3).

Para reducir el depósito excesivo tisular del cobre hay diversos procedimientos; para los casos más graves o de descompensación funcional hepática se ha utilizado diálisis, hemofiltración, exanguino-transfusión y trasplante, siendo este último el indicado en casos de cirrosis o fallo hepático agudo. Sin embargo, no suele resolver el daño neurológico, aunque puede mejorarlo. Para los demás

casos el tratamiento inicial son los quelantes y, entre ellos, los más utilizados son la D-penicilamina y la trientina (3).

La d-penicilamina reduce la afinidad de las proteínas intracelulares por el Cu e incrementa la síntesis de la enzima metalotioneína, que lo fija de forma no tóxica, lo quela, y aumenta la cupruria. Su absorción es buena si se toma sin alimentos que la puedan interferir. Tiene una vida media de 1,7-7 horas y se excreta fundamentalmente (80 %) por orina. Se recomienda iniciar el tratamiento con dosis bajas e ir aumentándolo progresivamente hasta llegar en adultos a 250 mg/día y en niños a 20 mg/kg/día, sin pasar de 1 gramo diario y en 2-4 dosis. Ha demostrado gran eficacia, que puede constatarse al comprobar incremento de cupruria en cifras superiores a 2 mg/día. Las mejorías clínica y analítica, como normalización de transaminasas, se observan progresivamente entre uno y seis meses, hasta incluso revertir el proceso de fibrosis o cirrosis. Sin embargo, aunque la mejoría hepática es notoria, puede no suceder así con la neurológica, sobre todo cuando el paciente tenía ya síntomas de daño del sistema nervioso central. Este empeoramiento, que suele ser transitorio, puede deberse al incremento del depósito neurológico del Cu movilizado del hígado. La D-penicilamina tiene riesgo de reacciones adversas que pueden contraindicar su utilización. Tiene efecto antipiridoxina al provocar deficiencia de piridoxal fosfato, motivo por el que se debe asociar constantemente con 25 mg/día de vitamina B6 oral. El 10 % de los pacientes muestra hipersensibilidad o sensibilidad cruzada a la penicilina y en ellos es aconsejable reducir la dosis, comprobando igual eficacia o pasar a otro tratamiento lo cual sucede en el 5 % de los casos, sobre todo si el paciente asociaba patología renal, trombocitopenia o alteración inmunitaria(3).

La trientina, dihidroclorato de trietilene tetramina, es otro quelante del Cu, con igual eficacia que la D-penicilamina, pero sin efectos secundarios importantes. No tiene grupos sulfhidrilos y quela el Cu al formar complejos estables. Es también cuprúrico. Su absorción es pobre, el 1 % de la ingesta, y se excreta por orina. Su

dosis en adultos es de 750-1500 mg/día y, en niños de 20mg/kg/día en 2-3 dosis, hasta un máximo de 1,5 gr/día y sin otros alimentos. Al ser también un quelante del hierro es fundamental que no lo tome con el tratamiento de trientina, si acaso tuviera anemia, porque podría ser tóxico. Sus efectos adversos son raros, quizá alguna molestia gastrointestinal, anemia o dolor muscular. El empeoramiento neurológico es poco frecuente, por lo que podría indicarse como primera droga en caso de presentar daño del sistema nervioso central. Al contrario que la D-penicilamina, que no es teratogénica, la trientina puede provocar alteraciones cromosómicas en el feto, quizá por toxicidad del zinc o inducir deficiencia de Cu (3).

Para prevenir la nueva acumulación del Cu hay dos tratamientos fundamentales: no ingerirlo en exceso y controlar su absorción intestinal. Los alimentos que deben evitarse son los ricos en Cu, fundamentalmente setas, cacao, frutos secos, vísceras, moluscos, mariscos y brócoli y evitar el consumo de suplementos vitamínicos que contengan Cu⁺. Es de particular importancia conocer el contenido de Cu del agua local y evitar su recogida de tuberías fabricadas con este elemento, así como no consumir aguas minerales que lo posean. Esta dieta debe seguirse durante toda la vida (3).

El mejor tratamiento de las complicaciones es el trasplante hepático y se aconseja cuando la afectación hepática es severa o fulminante. Otros tratamientos que alguno de los pacientes con afectación psicológica o neurológica pueden necesitar son rehabilitación muscular, terapia psicológica al paciente y a su familia, ayuda económica y asistencia social y oftalmológica. Por todo esto, la enfermedad de Wilson debe ser atendida, además de por un hepatólogo, por un grupo multidisciplinar en el que deben entrar a formar parte las asociaciones de pacientes (3).

El interés en las células madre endógenas, incluso del interior del hígado o de otros órganos, y en el trasplante de células derivadas de células madre exógenas

ha aumentado paulatinamente en los últimos años. En parte, el aislamiento de células madre pluripotentes (por ejemplo, células madre embrionarias humanas (hESC) o células hiPS) que podrían manipularse para generar células similares a los hepatocitos es responsable de parte de la expectativa actual. Los mecanismos para lograr una diferenciación hepática extensa en los casos de células hESC o hiPS se comprenden de manera incompleta en la actualidad. De manera similar, se está estudiando activamente si las células madre hematopoyéticas, mesenquimatosas, adipocitarias o placentarias que podrían injertarse y repoblar el hígado con capacidad para la corrección de la enfermedad, pero el tratamiento descrito se encuentra en una etapa temprana de desarrollo (148).

Los temas de interés en la actualidad incluyen si las células similares a los hepatocitos que pueden expresar genes hepáticos in vitro serán capaces de injertarse en cantidades suficientes y si dichas células proliferarán con suficiente funcionalidad para beneficios terapéuticos in vivo. En general, este no ha sido el caso con las células madre hematopoyéticas o mesenquimales. Aunque se ha informado que las células similares al hígado derivadas de adipocitos o placenta prolifera después del trasplante en el hígado, el valor de tales células no se ha determinado para la enfermedad de Wilson (148).

4. Diseño Metodológico

4.1 Tipo de Estudio

Estudio de caso. Se describieron las características clínicas y genéticas del individuo con diagnóstico presuntivo de enfermedad de Wilson (WD).

4.2 Área de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Montería, Córdoba donde se obtuvieron los datos clínicos y sociodemográficos del paciente y en la ciudad de Barranquilla, Colombia, donde se obtuvo la muestra de sangre mediante punción venosa y conservada en anticoagulante EDTA en el laboratorio clínico médico COLCAN (sede Barranquilla) y posteriormente remitida al laboratorio clínico médico COLCAN (sede Bogotá), donde se llevó a cabo la remisión de la muestra para ser analizada mediante biología molecular al Instituto de Medicina Genómica (Imegen), en la ciudad de Valencia, España .

4.3 Población y Muestra

Paciente de sexo masculino de 45 años con diagnóstico presuntivo altamente sugestivo de enfermedad de Wilson.

4.4 Instrumento de Captura de Datos

4.4.1 Historia clínica del paciente

4.4.2 Secuenciación del gen ATP7B

- Extracción del ADN genómico a partir de la muestra.

- Amplificación mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los exones, así como de las regiones intrónicas flanqueantes del gen ATP7B.
- Preparación de las reacciones de secuenciación de ADN.

4.5 Componente Bioético

El caso presentado corresponde a un hombre de 45 años, al cual se le practicaron exámenes de laboratorio y de biología molecular con el asentimiento informado del paciente y el consentimiento informado de su familia, incluyendo a su madre quien es su tutora. El presente trabajo cuenta con la autorización de la maestría en genética de la Universidad Simón Bolívar de Barranquilla (USB) y la aprobación ética científica del comité de ética investigación de la USB. Cumple con los requisitos de no maleficencia, beneficencia y autonomía y establecidos en las normas vigentes sobre investigación en seres humanos, contempladas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y la Resolución 8430 de 1993 (149) del Ministerio de Salud de Colombia (150).

5. Resultados y discusión

5.1 Características clínicas y epidemiológicas del paciente

5.1.1 Historia clínica del paciente

Paciente Masculino de 45 años, natural y residente en Montería Córdoba, de fenotipo caucásico soltero, de religión católica y de profesión y ocupación ingeniero industrial, quien hace 20 años (a mediados de noviembre de 1999), de manera súbita presenta cuadro clínico caracterizado por aislamiento, disminución del habla, desatención de su apariencia personal, pobre rendimiento laboral, hipersomnia, disminución del apetito, pérdida súbita de peso, ideas e intento suicida, por lo que fue valorado por médico institucional, quien hace impresión clínica de síndrome depresivo, ordenando valoración por psiquiatría, quien confirma diagnóstico y ordena tratamiento farmacológico con antidepresivos, con pobre mejoría de su cuadro clínico, situación que llevo al retiro laboral voluntario del paciente.

La edad de aparición de la enfermedad en el paciente estudiado (25 años) coincide con la descrita en la literatura cuyo patrón fluctúa entre la segunda y

tercera década de la vida, no obstante, el inicio de los síntomas puede presentarse tanto en la infancia como en la etapa de adulto mayor (21,147).

En cuanto a la forma de presentación inicial de la enfermedad con síntomas psiquiátricos presentada por el paciente, coincide con datos provenientes de revisiones de la literatura en la que informan que el 20 % de los pacientes consultan al psiquiatra, antes de ser diagnosticados formalmente con WD. Igualmente, la sintomatología reportada, como irritabilidad, desinhibición, cambios de personalidad, ansiedad, trastornos del sueño, disminuciones del rendimiento, depresión y tendencias suicidas concuerdan con la del paciente (9,21,151)

Seis meses después a pesar del manejo médico y apoyo psicosocial, continua el cuadro clínico sin mayor variación y aparece además nueva sintomatología caracterizada por temblor fino de miembro superior derecho, rigidez muscular, bradiquinesia, inestabilidad postural y para la marcha, distonías en miembros superiores y deterioro cognitivo rápidamente progresivo, motivo por lo cual es remitido al servicio de neurología donde se le practicaron pruebas de imágenes diagnósticas tomografía axial computarizada (TAC) y resonancia magnética nuclear cerebral (RMN) que no mostraron ninguna alteración anatómica, electroencefalograma con reporte normal, hacen diagnóstico de enfermedad de Parkinson y ordenan manejo farmacológico con Biperideno y Amantadina, y terapia física y ocupacional.

En cuanto a la sintomatología neurológica presentada posteriormente, concuerda con la detallada en la literatura, donde se mencionan 3 formas clínicas: Síndrome Distónico, Síndrome Atáxico y Síndrome Parkinsoniano, que pueden presentarse de manera simultánea o independiente, observándose en el paciente sintomatología mixta con predominio de las manifestaciones parkinsonianas (9,147).

En diciembre de 2000 en vista de la persistencia de la sintomatología y aumento del deterioro físico y cognitivo, a pesar del manejo médico e interdisciplinario y el completo apoyo biopsicosocial, los familiares acuden a centro neurológico en Medellín donde es valorado por neurólogo quien al examen físico encuentra además de temblor fino en miembros superiores, rigidez muscular, bradiquinesia, inestabilidad postural y para la marcha, distonías en miembros superiores, la presencia de anillo Kayser-Fleischer, hace impresión diagnóstica de Enfermedad de Wilson y ordena ecografía y estudios de laboratorio: Ceruloplasmina, Cobre Sérico y Cobre en orina, los cuales resultaron alterados: Ceruloplasmina baja, Cobre sérico disminuido y Cobre en orina aumentado, confirmando diagnóstico clínico de Enfermedad de Wilson y ordena manejo farmacológico con D-penicilamina, Sulfato de cinc y terapia física, además de la terapia farmacológica antes prescrita (Biperideno y Amantadina).

Referente a la impresión diagnóstica de WD se destaca, el anillo Kayser-Fleischer en el paciente, el cual está presente en más del 90 % de los casos reportados en la literatura, con cuadro clínico neuropsiquiátrico inicial; que sumado a las alteraciones de las pruebas de laboratorio clínico (Ceruloplasmina baja, Cobre sérico disminuido y Cobre en orina aumentado), también presentes en los pacientes con esta patología, permitieron realizar un diagnóstico certero. Teniendo en cuenta el sistema de puntuación desarrollado en la octava reunión internacional sobre la enfermedad de Wilson, Leipzig 2001, se puede clasificar al paciente con diagnóstico establecido dado que posee un puntaje total de 4, determinado por la presencia del anillo Kayser-Fleischer (2 puntos) y síntomas neurológicos graves (2 punto); a pesar de presentar ceruloplasmina sérica disminuida y Cobre en orina elevado no se puede adjudicar ninguna puntuación a estos parámetros, debido a que no tenemos información sobre los valores presentados en estos exámenes al momento del diagnóstico (20,21).

El manejo farmacológico instaurado en ese momento al paciente con D-penicilamina y Sulfato de zinc corresponde al recomendado por la literatura y por las guías de práctica clínica de WD, como tratamiento de primera línea debido a su efectividad y seguridad, sumado al tratamiento previo con Biperideno y Amantadina, para tratar las manifestaciones parkinsonianas (12).

Durante la década de 2001 a 2011 el paciente se mantuvo en control periódicos por el servicio de neurología con mejoría clínica estacionaria, desaparición del anillo Kayser-Fleischer, y controles de laboratorio satisfactorios (Ceruloplasmina normal, Cobre sérico bajo y Cobre en orina aumentado, pruebas de función hepática dentro de los parámetros normales) e imágenes diagnósticas sin cambios importantes (RMN de cerebro y ecografía hepática), en manejo farmacológico con Biperideno, Amantadina, Sulfato de zinc, D- penicilamina, Vitamina B6 y Fluoxetina.

Es de anotar que durante este periodo el paciente presentó una notable adherencia al tratamiento farmacológico manifestado con la desaparición del anillo de Kayser-Fleischer al examen físico, denotando la disminución de las concentraciones de cobre en los diferentes tejidos, acompañado además, de interrupción de daños entre el cerebro e hígado demostrado por la ausencia de cambios en las imágenes diagnósticas, junto con el aumento de la excreción de cobre en orina de 24 horas y la disminución del cobre sérico como puede evidenciarse en el histograma de las pruebas de laboratorio clínico (gráfico 1). Estos resultados concuerdan con los esperados durante el tratamiento de mantenimiento, en el que normalmente hay una fluctuación en la excreción urinaria de cobre en 24 horas entre 200-500 μg /día, así como también la concentración de cobre sérico por debajo de 15 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (20).

No obstante, el cumplimiento del tratamiento farmacológico, terapias físicas, terapia ocupacional y el incondicional apoyo psicosocial de su familia, a mediados de septiembre de 2012 se encontró en RMN cerebral de control imágenes sugestivas de atrofia cerebral difusa, y en ecografía Doppler abdominal se encuentra atrofia hepática y nódulos regenerativos, razón por la cual es remitido a hepatólogo quien confirma diagnóstico de Enfermedad de Wilson y ordena ecografía abdominal Doppler color control, la cual mostró persistencia de atrofia hepática y aumento de tamaño de los nódulos regenerativos, además de esplenomegalia, quien ordena continuar con la terapia farmacológica instaurada y controles periódicos clínicos con exámenes de laboratorio e imágenes diagnósticas.

En cuanto a los hallazgos presentes en las neuroimágenes existe una concordancia con los reportados en la literatura de atrofia difusa o focal, asociados a trastornos extrapiramidales de inicio temprano. Las localizaciones típicas son los núcleos grises centrales y la sustancia blanca. La afectación de núcleos grises es más frecuente, suele ser bilateral y simétrica en putámenes, núcleos caudados, tálamos, globos pálidos, núcleos dentados, protuberancia y mesencéfalo (sustancia negra, sustancia gris periacueductal, tectum y núcleos rojos), relacionándose también la localización de las lesiones con las manifestaciones neuropsiquiátricas presentadas por el paciente (9).

Así como también se encontró similitud en los hallazgos de imágenes hepáticas, reportadas en la literatura caracterizadas por: irregularidades en los contornos, disminución en sus dimensiones, con patrón ecográfico heterogéneo, imágenes pseudonodulares y esplenomegalia (18).

Posterior a esto el paciente continúa en control interdisciplinario con neurología, hepatología, psiquiatría y fisioterapia (terapia ocupacional, física y del lenguaje), y a mediados del 2014 acude a control con hepatólogo con reporte de ecografía

abdominal total que mostró persistencia de atrofia hepática y nódulos ecogénicos compatibles con Hemangiomas Cavernosos y Esplenomegalia leve homogénea.

En 2015 la RMN de cerebro simple mostró dilatación hidrocefálica del sistema ventricular con compromiso de los ventrículos laterales y del tercer ventrículo y persistencia de atrofia cerebral difusa que no concuerda con la edad del paciente.

Las pruebas de laboratorio continúan con los resultados esperados y la terapia farmacológica continua sin modificación.

Los hallazgos encontrados en las imágenes diagnósticas de cerebro coinciden con las reportadas en la literatura de atrofia cortical generalizada y aumento en el tamaño de los ventrículos (3).

A principios de 2017 se realizó TAC abdominal simple y contrastado que reporto lesiones nodulares hepáticas hipodensas que demuestran un realce nodular con el medio de contraste que sugieren hemangioma. Bazo de tamaño y densidad normal.

A mediados de marzo se realizó ecografía abdominal que mostró formación nodular a nivel del lóbulo izquierdo del hígado de baja ecogenicidad y bazo aumentado de tamaño. En julio del mismo año, se llevó a cabo revaloración por fisioterapia, quien encuentra paciente en aceptables condiciones generales, alerta. Mejoría de la alteración y déficit de los equilibrios al estar de pie y caminar. Mejoría en la rigidez de las cuatro extremidades. Alteración en funciones mentales superiores. Ordenó continuar con la rehabilitación y adición de hidroterapia para mejoría de fuerza. A finales de agosto del mismo año se realizó RMN de cerebro simple de control que mostró persistencia del aumento de la talla ventricular y atrofia cerebral difusa, y vasculopatía de pequeño vaso – tálamo perforante. A inicios de septiembre se realiza RMN de abdomen simple y contrastado que

reportó lesiones hepáticas focales hipointensas e hiperintensas que en la fase arterial captan contraste que sugieren hemangiomas hepáticos como primera posibilidad diagnóstica. A finales del 2018 se realizó esofagogastroduodenoscopia que revela gastritis antral crónica activa. Se realiza biopsia que reportó gastritis crónica no atrófica antral difusa con actividad severa, no erosiva, sin evidencia de metaplasia intestinal, ni displasia. *Helicobacter pylori* presente en escasa cantidad. Con referencia a los hallazgos encontrados en la esofagogastroduodenoscopia, son comparables a lo reportado en un estudio de caso de WD en la ciudad de Medellín, Colombia en el cual, el paciente estudiado presentó en la endoscopia digestiva superior várices esofágicas grado I/ IV; gastritis crónica activa y duodenitis bulbar leve (152).

El 14 de abril de 2019 se procedió a realizar la entrevista clínica- epidemiológica al paciente y su núcleo familiar, en su residencia, en la ciudad de Montería, Córdoba, a través una anamnesis detallada (revisión de la historia clínica del paciente, encuestas a familiares, elaboración de un familiograma) y la realización de un examen físico.

Se encontró al paciente en aceptables condiciones generales.

Signos Vitales: Pulso: 70 latidos x minuto, Frecuencia Respiratoria: 16 Respiraciones x minuto, Presión Arterial (PA): 120/80 mm Hg, Peso: 65 Kg, Talla: 1.75 m, índice de Masa Corporal (IMC): 18,5

Cabeza: Cráneo normoconfigurado, sin traumas, ni lesiones aparentes. Cuero cabelludo de implantación androide.

Cuello móvil, sin masas, ni adenopatías.

Tórax simétrico, expansible. Ruidos cardíacos rítmicos, no soplos. Murmullo vesicular conservado, sin sobreagregados.

Abdomen blando, depresible, no doloroso a la palpación, no masas, no megalias. Extremidades eutróficas, sin edema.

Neurológico: Consiente, alerta, con seguimiento visual y auditivo. Disartria. Comprende y ejecuta órdenes sencillas. Alteración de las funciones mentales superiores. Alteración y déficit de los equilibrios al estar de pie y caminar. Marcha atáxica. Movimientos anormales en las cuatro extremidades algunos con temblor otros con disquinesias. Al realizar el fondo de ojo, con lámpara de hendidura no se observa presencia de anillo Kayser-Fleischer.

A continuación, se describen los reportes de exámenes de laboratorio del paciente (tabla 3):

Tabla 3. Examen de laboratorio de paciente

Análisis	Resultado	Valores de referencia
Química sanguínea		
Ceruloplasmina	4.6 mg/dl	(15-60 mg/dl)
Cobre Sérico	26 ug/dl	(70-140 ug/dl)
Cobre en Orina	513 ug/24 horas	3-50 ug/24 horas
Albumina	4.35 g/dl	3.5 – 5.5 gr/dl
Transaminasa Glutámica - Pirúvica (ALT-GPT).	13.07 U/L	Hasta 40 U/L
	6.45 U/L	(Hasta 38 U/L)
Transaminasa Glutámico Oxalacética (AST – GOT)		
Bilirrubina Total	0.37 mg/dl	Hasta 1,1 mg/dl
Bilirrubina Directa	0.16 mg/dl	Hasta 0,25 mg/dl
Bilirrubina Indirecta	0.21 mg/dl	Hasta 0,75 mg/dl
GammaGlutamil Transferasa:	26.36 U/L	Menor 60 U/L
Proteínas Totales	6.60 g/dl	6.6 – 8.3 g/dl

Glucosa	80 mg/dl	70 – 110 mg/dl
Creatinina.	1.28 mg/dl	0.7 – 1.4 mg/dl
Hemograma		
Eritrocitos.	5.310.000 mm ³	4.500.000 – 5.500.000 mm ³
Hemoglobina	16 g/dl	14.5 – 16.5 g/dL
Hematocrito	47 %	40-50 %
VCM	90 fL	80 – 97 fL
HCM	30.1 pg	26.5 – 33.5 pg
CHCM	33.5 g/dL	31 – 38 g/dL
Plaquetas	232.000 mL	150.000 – 450.000 mL
Leucocitos	6.100 ml	5.000 – 10.000 mL
Neutrófilos:	65,60 %	43 – 65 %
Linfocitos.	24.3 %	30 – 40 %
Monocitos	6.9 %	0,1 – 6 %
Eosinófilos	2.5 %	0,1 – 5 %
Basófilos	0,70 %	(0,0 – 2.0 %

Fuente: Datos propios del investigador

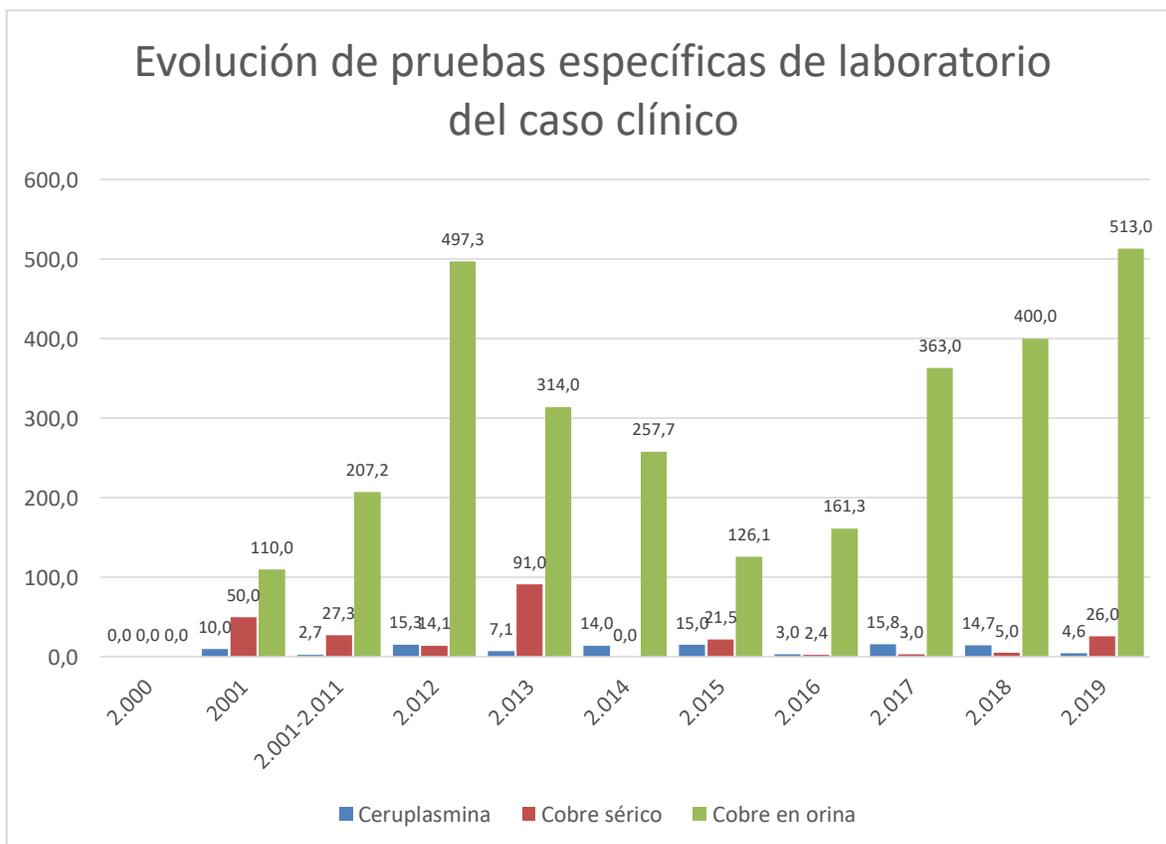
Manejo farmacológico actual: D-penicilamina (Cupripén) capsulas 250 mg uso: 5 capsulas día vía oral, Amantadina HCL (Zintergina) tabletas 100 mg usaron: 1 tableta cada 8 horas vía oral, Biperideno Tabletadas 2 mg usó: 1 tableta cada 8 horas vía oral, Fluoxetina tabletas 20 mg uso: 1 tableta día vía oral por las mañanas, Acetato de zinc dihidrato Cápsulas 50 mg uso: 1 cápsula día vía oral.

En cuanto a la terapia farmacológica actual instaurada al paciente, podemos afirmar que el protocolo utilizado corresponde al establecido en la literatura en cuanto a los fármacos de primera elección y su posología: D-penicilamina dosis de mantenimiento entre 750 – 1500 mg/día dividido en tres tomas, Acetato de zinc dihidrató dosis de mantenimiento entre 50 – 75 mg/día. Además de los medicamentos adicionales utilizados para controlar los síntomas neuropsiquiátricos, que están prescritos en las dosis óptimas.

En los reportes de las pruebas de laboratorio (tabla 3 y gráfico 1) se evidencia la adecuada adherencia al tratamiento por parte del paciente, reflejada en cobre en orina de 24 horas elevado 513 µg /día (200-500 µg /día), cobre sérico 26 µg /dL

(<15 µg/dL), además de pruebas de función hepática, renal, metabólicas y hemograma dentro de los parámetros normales (153).

Gráfico 1. Evolución de pruebas específicas de laboratorio del caso clínico



Fuente: Elaboración propia del autor.

5.1.2 Análisis del Familiograma

Familia caso clínico constituida desde 1973, en la actualidad de estructura monoparental, (padre fallecido en 1994 por leucemia), compuesta por la cabeza de familia BPH* de 67 años, de profesión contadora y de ocupación ama de casa y sus tres hijos: caso índice de 45 años, de estado civil soltero, de profesión ingeniero industrial, con antecedente de Enfermedad de Wilson; KD* de 42 años, de estado civil soltero, de profesión administrador de empresas, quien sufrió un accidente automovilístico (12 marzo de 2004) y como consecuencia de éste presenta notoria discapacidad y BG de 27 años, de estado civil soltero, de profesión abogado, quienes conviven bajo el mismo techo. La relación familiar es armoniosa, con lazos estrechos.

Es importante destacar que la abuela materna DHC* fallece a edad temprana 40 años, como consecuencia de una hepatopatía en estudio, convirtiéndose de esta forma en un caso sospechoso para Enfermedad de Wilson.

El resto de la familia sin antecedentes de importancia para el caso estudiado (gráfico 2).

El 13 de mayo de 2019 se recibe reporte de secuenciación completa del gen ATP7B, realizada por el método de secuenciación de última generación que reportó los hallazgos representados en la tabla 4.

Tabla 4. Reporte de secuenciación completa del gen ATP7B en paciente analizado

Gen MIM	Cambio detectado			Referencia
	Condición	RefSeq NM_000053.3	Proteína NP_000044.2	
*606882 ATP7B	Heterocigosis	c. 2495A>G	p. Lys832Arg	rs1061472
	Heterocigosis	c.2855G>A	p.Arg952Lys	rs732774
	Heterocigosis	c.2973G>A	p. Thr991Thr	rs1801246
	Heterocigosis	c.3009G>A	p. Ala 1003Ala	rs1801247
	Heterocigosis	c.3060+5G>T	p.Met645Arg	rs1353373400 Margarit E y Cols al. Clin Genet. 2005; 68(1): 61-8
	Heterocigosis	c. 3402delC	p. Ala 1135Glnfs*13	rs137853281, Firneisz G y Cols. Am J Med Genet. 2002; 108 (1): 23-8
	Heterocigosis	c.3419T>C	p.Val1140Ala	rs1801249
	Heterocigosis	c. 3903+6C>T		rs2282057

Se ha empleado la nomenclatura recomendada por la Human Genome Variation Society (HGVS).

Fuente: reporte clínico de laboratorio de biología molecular.

5.1.3 Análisis genotípico

La secuenciación de exomas del gen ATP7B (MIM *606882) permitió caracterizar las mutaciones asociadas para este gen en el paciente de estudio, hallándose dos cambios tipo SNPs en heterocigosis implicados con la enfermedad de Wilson, este estudio permitió identificar la transversión de una base T por una G (M[ATG]>R[AGG]) en heterocigosis cercana al sitio dador del splicing del intrón 13 (c.3060+5G>T) clasificado como un cambio patológico para esta enfermedad de

acuerdo con la base de datos HGMD (<https://clinvarminer.genetics.utah.edu/variants-by-gene/ATP7B/condition/Wilson%20disease>) mediante el código de rastreo (CS052032) y la base de datos de la enfermedad de Wilson de la Universidad de Alberta (Canadá), esta mutación implica un cambio de un aminoácido metionina por una arginina en el residuo 645 de la proteína, ubicado a nivel citoplasmático dentro de un dominio topológico, importante en la regulación de la proteína, esta variación implica la sustitución de un aminoácido apolar por un aminoácido polar sugiriendo que pueda existir un cambio en el patrón de plegamiento de la proteína dada la naturaleza química de los aminoácidos(154) afectando la actividad de la proteína ATP7B.

Margarit y colaboradores (155) describieron previamente esta mutación (c.3060+5G>T) en 2005, en una población española conformada por 40 pacientes con diagnóstico de enfermedad de Wilson de los cuales 22 presentaron específicamente esta mutación (55 %). También, en 8 controles sanos se identificó esta mutación. Por lo tanto, podemos inferir la necesidad de otra mutación adicional diferente, para generar manifestaciones clínicas en los portadores.

Brage y colaboradores (156) en un estudio realizado en Galicia, España en 2006, identificaron en dos pacientes la mutación c.3060+5G>T, en el sitio dador del splicing del intrón 13, originando una mutación no sinónima en la cual hay un cambio de una base nitrogenada pirimidínica por otra base nitrogenada púrica, produciendo a su vez, el cambio de un aminoácido por otro y en este caso el cambio del aminoácido metionina por arginina en la posición 645, representada como M645R, aunque también ha sido reportada en mutaciones del exón 6. En la literatura esta mutación está relacionada como causante de enfermedad de Wilson en la población judía y recientemente en la población española (155,156) afectando el primer dominio transmembrana (TM1), el cual junto con el dominio transmembrana 2 (TM2), forman un bucle luminal importante para la unión y

liberación de cobre; afectando además el sexto dominio de unión al cobre NMBD6, el cual se encuentra unido a TM1. NMBD5 y NMBD6 son importantes para la actividad funcional de las ATPasas de cobre, afectando la afinidad en los sitios de unión y el transporte normal de cobre. Esto sugiere un importante defecto funcional de la proteína ATP7B en la incorporación del cobre a la apoceruloplasmina, evidenciado en los bajos niveles plasmáticos de ceruloplasmina presentados por el paciente (ver gráfico 1). (148,155–157).

Por otro lado, la segunda mutación de implicaciones patológicas hallada refiere a una delección de una base C (c.3402delC) en 13: 51942396 (GRCh38), generando una alteración en el marco de lectura dando lugar a un codón de parada prematuro (p.Ala1135Glnfs*13). Este cambio ha sido clasificado por la base de datos Clinvar con código de rastreo (ID88958) (enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/88958/>), HGMD (CD930912) (158), la base de datos de la enfermedad de Wilson de la universidad de Alberta (<http://www.wilsondisease.med.ualberta.ca>) (106) y la UMD-ATP7B mutation database (<http://www.umd.be/atp7b>) (105) como un cambio patológico, dado que genera una proteína truncada de 1135 aminoácidos, eliminando tres dominios topológicos (SEHPL en el dominio N; TGDN y GDGVND en el dominio A) y los dos últimos dominios transmembranales.

Costa Machado y colaboradores, en un estudio realizado en São Paulo, Brasil, en 2007, describen la mutación c.3402delC como la más frecuente en el marco de lectura (con una prevalencia de 30,8 a 34,8 %) (17,147). Posteriormente, Paradisi y colaboradores, en un estudio realizado en población venezolana en 2014, informan una prevalencia de 26,9 % (159). En la literatura esta mutación está reportada como causante de enfermedad de Wilson en caucásicos americanos, suecos, rusos y alemanes, afectando el exón 15 en una región que codifican el dominio A (TGDN), sitio de unión al ATP, de gran importancia en la función de la proteína (27,107,160). Corroborando que las mutaciones del marco de lectura que

dan origen a codones de parada prematuros están asociadas a un grave deterioro del metabolismo del cobre y a la aparición temprana de manifestaciones clínicas neurológicas, como ocurre en el paciente estudiado. Demostrado esto, además, por los niveles disminuidos de ceruloplasmina sérica y su nula actividad oxidasa (21,146,147,156,159).

La anterior descripción genética permite clasificar al paciente como heterocigoto compuesto, dado que es portador de dos variantes mutacionales tipo SNPs distintas para cada alelo.

5.1.4 Mutaciones no patogénicas identificadas en paciente de estudio

En la muestra del paciente arriba indicado, se han detectado varios cambios (SNP) en la secuencia analizada del gen ATP7B (tabla 5). Como se puede observar la mayoría de las mutaciones han sido identificadas previamente por la literatura como benignas, destacándose *únicamente* rs137853281 y rs137853281 como patogénicas:

Tabla 5. SNP identificados en el paciente estudiado y publicaciones relacionadas

Mutación	Proteína	SNP	Ubicación	Publicaciones	Significancia clínica
T>C / T>G	ATP7b	rs1061472	Chr13 (NC_000013.11):51950352 -51950352	(161)(162)(163)(164)(165)(166)(167)(168)(169)	RCV000029356.3 : Benigno RCV000078043.9 : Benigno RCV000755464.1 : Benigno
C>T	ATP7B	rs732774	chr13:51949672 (GRCh38.p12)	(170)(171)(172)(167)(168)(173)	RCV000029357.3 : Benigno RCV000078044.11 : Benigno
C>T	ATP7B	rs1801246	chr13:51946371 (GRCh38.p12)	(121)(174)(155)(160)	RCV000029362.3 : Benigno RCV000078047.8 : Benigno RCV000755469.1 : Benigno

C>T	ATP7B	rs1801247	chr13:51946335 (GRCh38.p12)	(165)(175)(153)(176)(173)	RCV000029363.3 : Benigno RCV000078048.8 : Benigno RCV000755467.1 : Benigno
C>A	ATP7B	rs1353373400	chr13:51946279 (GRCh38.p12)	No hay publicaciones para rs1353373400 según clinvar. Sin embargo, Margarit y Cols(155) y Brage(156). Encontraron en poblaciones españolas una transversión de una G por una T en heterocigosis cercana al sitio dador del splicing del intrón 13 (c.3060+5G>T)	No reportado en ClinVar
DelG	ATP7B	rs137853281	chr13:51942396- 51942398 (GRCh38.p12)	(159)a(146)b(177)(5)(111)(178)(147)b(10) a: Venezuela, b: Brasil,	RCV000169026.5 : patogénica RCV000523051.1 : patogénica
A>G / A>T	ATP7B	rs1801249	chr13:51941218 (GRCh38.p12)	(165)(167)(179)(153)(173)	RCV000029369.3 : benigno RCV000078051.13 : benigno RCV000755463.1 : benigno
G>A	ATP7B	rs2282057	chr13:51937470 (GRCh38.p12)	(165)(179)	RCV000029376.3 : benigno RCV000078054.8 : benigno

Fuente: Datos propios del investigador. Se resalta en negrita los SNPs patógenos según la literatura y correlacionados con los hallazgos de laboratorio del paciente.

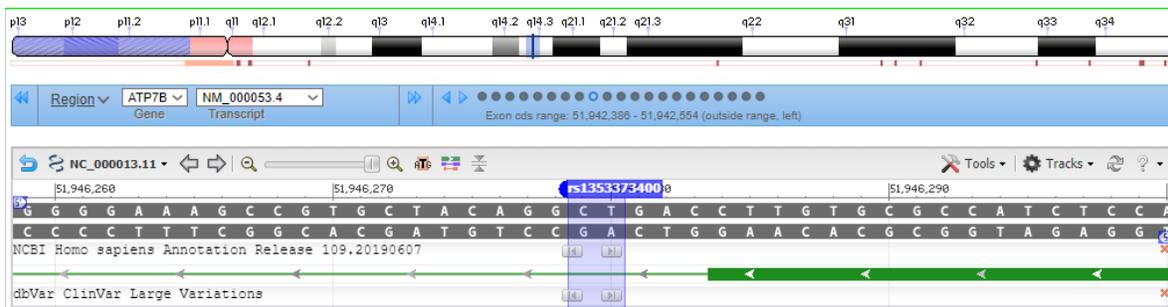
Varios de estos polimorfismos fueron descritos previamente por Margarit y colaboradores, en 2005, en población española, como variaciones de la secuencia sin importancia clínica, debido a que la sustitución de nucleótidos no produce sustitución de aminoácidos en la proteína resultante, conocidas como mutaciones silentes, estos resultados fueron encontrados en controles normales de la población o en pacientes con dos mutaciones patológicas definidas. Dentro los cuales se encuentran: p.Lys832Arg localizada en el exón 10, relacionado con el dominio de traducción (Td) de la proteína, p.Thr991Thr localizada en el exón 13, relacionado con el dominio transmembrana 6 (TM6) de la proteína, p.Ala1003Ala localizada en el exón 13, relacionado con el dominio TM6 de la proteína, p.Val1140Ala localizada en el exón 18, relacionado con el sitio de unión ATP de la proteína (155). Brage y colaboradores, en 2006 en población de Galicia, España, identificaron el polimorfismo p.Ala1003Ala localizada en el exón 13 relacionado con el dominio TM6 de la proteína (155,156).

Posteriormente Kumari Niti y colaboradores en 2018, realizaron un estudio en población india para identificar nuevas mutaciones en el gen ATP7B, encontrando varios polimorfismos: p.Lys832Arg, posición en el ARNm c.2495A>G, relacionado con el dominio transmembrana 4 (TM4) y con el dominio Td de la proteína, p.Arg952Lys posición en el ARNm c.2855G>A, relacionado con los dominios TM5 y TM6 de la proteína y mutaciones sinónimas o silenciosas que coinciden con los presentados por el paciente estudiado: p.Thr991Thr, posición en el ARNm c.2973G>A, relacionado con los dominios TM6 y domino P o de fosforilación, p.Ala1003Ala posición en el ARNm c.3009G>A, relacionado con los dominios TM6 y domino P (180).

5.1.4.1 rs1353373400

Se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 13. Su posición es: chr13:51946279 (GRCh38.p12). Su localización en el cromosoma 13 se esquematiza en la figura 7.

Figura 7. Representación esquemática de SNP rs1353373400

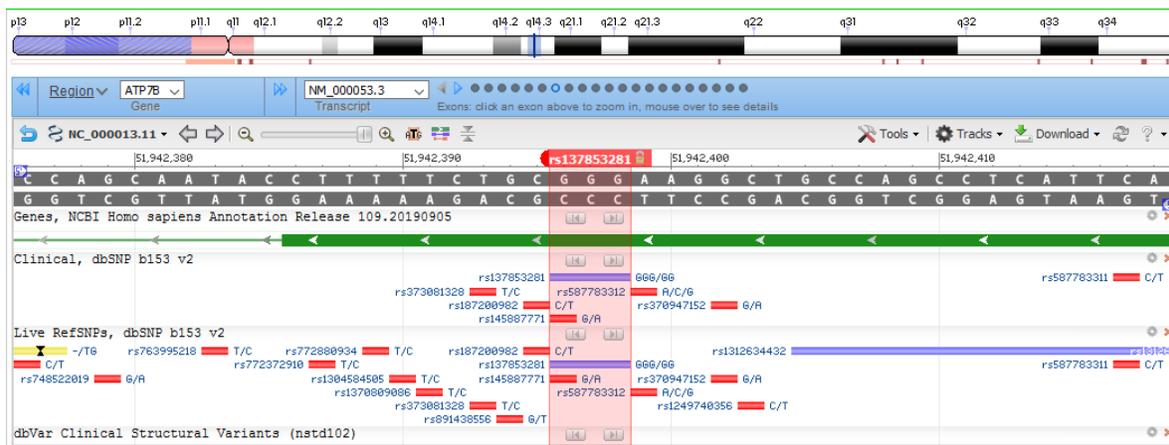


Tomado de: Clinvar Ncbi. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view/?q=rs1353373400&asm=GCF_000001405.38

5.1.4.2 rs137853281

Se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 13. Su posición es: 13q14.3, 13: 51942396 (GRCh38). Su localización en el cromosoma 13 se esquematiza en la figura 8.

Figura 8. Representación esquemática de SNP rs137853281



Tomado de: Clinvar Ncbi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view/?q=rs1353373400&asm=GCF_000001405.38

5.1.5 Análisis comparativo de genotipo-fenotipo con estudios de referencia y caso clínico

Se puede establecer una relación genotipo-fenotipo entre las mutaciones patológicas para WD presentadas por el caso estudiado (c.3402delC y c.3060+5G>T), su frecuencia, sus manifestaciones clínicas y las referidas en la literatura de pacientes con las mismas mutaciones.

La frecuencia de la mutación c.3402delC es baja en el mundo entre 1-8 %, con un valor promedio de 3,2 % para los países del Noreste de Europa (Inglaterra, Suecia, Alemania, Hungría y Polonia), Mediterráneo (España, Italia, Ucrania y Serbia); sin embargo, a nivel de Latinoamérica observamos un incremento en la

frecuencia en pacientes cubanos del 5 % y brasileros del 11,4 - 34,8 %, siendo esta última la prevalencia más elevada para la mutación antes descrita. Es de notar que, en un estudio realizado en la población latinoamericana, en Venezuela, se encontró una frecuencia del 26,9 %, en el que es importante destacar la presencia ascendencia colombiana, abuelos maternos que vivían en los departamentos de Bolívar (Magangué) y Norte de Santander (Chinácota). Para el caso de la mutación c.3060+5G>T, que produce p. Met645Arg, un cambio de un aminoácido metionina por una arginina en el residuo 645 de la proteína, es reportado en varios países de Europa con una frecuencia de 27 %, no se reporta en América (21,30,146,159)

La presentación inicial de la enfermedad con manifestaciones psiquiátricas en el paciente es característica de la mutación c.3402delC como puede evidenciarse en un estudio realizado en la Facultad de Medicina de la Universidad de São Paulo, Brasil, en el cual la mayoría de los pacientes son heterocigotos para la mutación antes referida, igual que el caso índice. Las manifestaciones psiquiátricas más frecuentemente referenciadas en la literatura son los síntomas depresivos, con los cuales se confunde el diagnóstico inicial de WD, retardando de esta forma, el inicio de la terapia, y la aparición de daño permanente en el sistema nervioso central. (146,147)

De igual forma las manifestaciones neurológicas presentadas más adelante por el paciente son características de la mutación c.3402delC, con la excepción del temblor en reposo y de los anillos de Kayser-Fleischer que también se manifiestan en la mutación c.3060+5G>T. (Ver tabla 5). Cabe resaltar que la presencia del anillo de Kayser-Fleischer denota un daño neurológico por la acumulación del metal en los tejidos diana(147,159).

Las manifestaciones hepáticas fueron presentadas más tardíamente por el paciente estudiado, siendo las más frecuentes presentadas en los estudios de imágenes diagnósticas la atrofia y la esteatosis hepática, encontrándose

reportadas por la literatura en los dos tipos de mutaciones (c.3402delC y c.3060+5G>T) antes descritas, con una mayor prevalencia en la mutación c.3060+5G>T (tabla 6) (155,156).

Tabla 6. Comparativo de estudios de referencia y caso clínico por genotipo y características clínicas

Fenotipo	Caso Clínico	Genotipo	
		(c.3060+5G>T)	(c.3402delC)
Psiquiátrico			
Sentimientos de tristeza o desesperanza	Presente	nd(159)	11/13 tuvieron síntomas psiquiátricos no detallados(178)
Arrebatos de enojo, irritabilidad o frustración	Presente	nd(159)	nd(147)*
Pérdida de interés por actividades habituales	Presente	nd(159)	nd(147)
Alteraciones del sueño	Presente	nd(159)	nd(147)
Astenia y/o Adinamia	Presente	nd(159)	23/41(147)
Pérdida de peso y/o pérdida del apetito	Presente	nd(159)	nd(147)
Ansiedad, agitación o inquietud	Presente	nd(159)	nd(147)
Ideas suicidas y/o intento de suicidio	Presente	nd(159)	nd(147)
Neurológico			
Temblor Reposo	Presente	13/28(159); 3/21 presentaron signos neurológicos no especificados, 1/21 presentó solo signos neurológicos (155), 2/21 presentaron signos neurológicos / hepáticos	nd(178) Presente(147), 'manifestaciones cerebrales'(146)
Rigidez muscular	Presente	Noesp(159)	nd(178) Presente(147)
Alteraciones Postura	Presente	Noesp(159)	nd(178) Presente(147)
Alteraciones	Presente	Noesp(159)	nd(178) Presente(147)

Marcha			
Distonías	Presente	Noesp(159)	nd(178) Presente(147)
Disfagia	Presente	nd(159)	Presente(147)
Risa sardónica	Presente	nd(159)	Presente(147)
Lentitud para razonar, hablar y hacer movimientos corporales	Presente	nd(159)	Presente(147)
Bradicinesia	Presente	Noesp(159)	nd(178)
Deterioro cognitivo	Presente	Noesp(159)	nd(178)
Atrofia Cerebral	Presente	Noesp(159)	nd(178)
Alteración Sistema Ventricular Cerebral	Presente	Noesp(159)	nd(178)
Anillo Kayser-Fleischer (Diagnóstico)	Presente	15/28(159)	6/13(178), presente(147)
Hepático			
Atrofia Hepática	Presente	17/28*(159); 24/27 presentaron solo signos hepáticos(155)	8/13(178), 'manifestaciones hepáticas (146)
Nódulos Regenerativos	Presente	Noesp(159)	nd(178)
Esteatosis Hepática	Ausente	Noesp(159), Presente (156)	3/13(178),
Pruebas Función Hepática	Normales	Noesp(159)	nd(178)
Pruebas de laboratorio clínico			
Ceruloplasmina	Disminuida	Disminuida en 11/28(159), disminuida(156)	Disminuida en 2/13(178)
Cobre Sérico	Disminuido	nd(159)	nd(178)
Cobre en Orina	Aumentado	Aumentado en 19/28(159)	Aumentado en 11/13(178)
Albumina y Proteínas Totales	Normal	nd(159)	nd(178)
Transaminasa Glutámico Pirúvica (ALT-GPT)	Normal	nd(159)	nd(178)
Transaminasa Glutámico Oxalacetica (AST - GOT)	Normal	nd(159)	nd(178)
Bilirrubina total, directa e indirecta	Normal	nd(159)	nd(178)
Gamma Glutamil Transferasa	Normal	nd(159)	nd(178)
Creatinina	Normal	nd(159)	nd(178)

Hemograma	Normal	nd(159)	nd(178)
-----------	--------	---------	---------

Fuente: Datos propios del autor analizando revisiones de artículos previos. Noesp= no se especifica en la descripción clínica del(os) paciente(s), nd=no hay datos. (159)=Paradisi y Cols en población venezolana. Algunos de los pacientes tenían ascendencia colombiana. *El 100 % de los pacientes (brasileros) presentaron otros signos neurológicos. Este estudio solo presenta datos clínicos neurológicos (147). Estudio en población española (155).

6. Conclusiones y Recomendaciones

6.1 Conclusiones

En la actualidad, el paciente se encuentra en aceptables condiciones generales a pesar de los notables efectos de invalidez que provoca la enfermedad de Wilson en las personas afectadas. Se considera que la satisfactoria evolución del sujeto está asociada a una buena adherencia al tratamiento (181,182), a la intervención multidisciplinaria que incluye manejo clínico especializado (hepatología, neurología, psiquiatría y fisioterapia), terapia física, terapia ocupacional, terapia de lenguaje, trabajo social y psicología (183,184) y a los cuidados proporcionados por su núcleo familiar. Lo anterior se refleja en una aceptable calidad de vida y evolución clínica del paciente (185–187).

El análisis genético permitió clasificar al paciente como heterocigoto compuesto, dado que es portador de dos variantes mutacionales tipo SNPs distintas para cada alelo: transversión de una base T por una G (M[ATG]>R[AGG]) en heterocigosis cercana al sitio dador del splicing del intrón 13 (c.3060+5G>T). La segunda mutación de implicaciones patológicas hallada refiere a una delección de una base C (c.3402delC) en 13: 51942396 (GRCh38), generando una alteración en el marco de lectura dando lugar a un codón de parada prematuro (p.Ala1135Glnfs*13). Ambas mutaciones en el paciente son consideradas según la literatura como patológicas y su cuadro clínico coincide con las descripciones también reportadas en estudios previos realizados en diferentes poblaciones. El paciente presentó un cuadro clínico variado con la sintomatología psiquiátrica, neurológica y hepática. Es interesante recalcar que en la mayoría de estudios encontrados en la literatura (ver tabla 6), los pacientes presentaban algunas y no todas las manifestaciones clínicas que han sido agrupadas en la clasificación fenotípica de la enfermedad

que establece la forma de presentación en función de los síntomas predominantes, de tipo hepático y/o neurológico (ver tabla 1).

Es importante el diagnóstico oportuno de la enfermedad para evitar complicaciones que en el futuro generen discapacidad irreversible y a su vez impactar positivamente la morbilidad y mortalidad; instaurando de manera temprana un tratamiento farmacológico que retrase o impida el empeoramiento progresivo de las condiciones del paciente. En el paciente estudiado, al presentarse un cuadro clínico tan variado, pudo dificultarse el diagnóstico temprano de la enfermedad y retrasar en cierta medida la instauración de un tratamiento adecuado a base de quelantes.

A pesar del diagnóstico tardío debido a la multiplicidad e inespecificidad del cuadro clínico presentado por el paciente, la instauración inmediata del tratamiento farmacológico con medicamentos quelantes, favoreció la mejoría clínica; evidenciada por la desaparición del anillo Kayser-Fleischer (signo de depleción del exceso de cobre en el sistema nervioso central) y controles de laboratorio satisfactorios (ceruloplasmina normal, cobre sérico bajo y cobre en orina aumentado, pruebas de función hepática dentro de los parámetros normales) e imágenes diagnósticas sin cambios importantes (RMN de cerebro y ecografía hepática) (188–195)

Aun cuando el tratamiento farmacológico puede paliar la sintomatología presentada por el paciente, este no puede detener su evolución sino solo retrasarla. Es inevitable el permanente deterioro sistémico, pero este estudio demostró que es posible retrasar la severidad de los síntomas y signos de los afectados con la enfermedad de Wilson brindándole la oportunidad de una mejor calidad de vida (196).

6.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios poblacionales que permitan identificar mutaciones genómicas asociadas a la enfermedad de Wilson y a otras enfermedades huérfanas en Colombia.

También se recomienda la apertura de líneas de investigación en genética clínica en la maestría de genética que aborden el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno de pacientes afectados con enfermedades huérfanas.

Se recomienda que a los familiares de pacientes diagnosticados con enfermedad de Wilson u otras enfermedades huérfanas se les realice estudio genético con el fin de detectar heterocigosidad u homocigosidad, por lo que puedan recibir consejería genética si es necesario. Debido a los altos costos que representan estos diagnósticos especializados, estos deberán ser asumidos por el sistema general de seguridad en social en salud de Colombia.

Es importante ampliar el estudio genético a los hermanos del paciente con el objetivo de detectar posibles portadores y de esta forma recibir consejería genética en consulta especializada.

7. Anexos

7.1 Anexo

**FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS A FAMILIARES DEL CASO INDICE
DE LA TESIS. PROYECTO. ENFERMEDAD DE WILSON, UN RETO
DIAGNÓSTICO. REPORTE DE CASO**

**FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y BIOMÉDICAS
MAESTRÍA EN GENÉTICA**

Nombre: _____

Sexo _____

Fecha De Nacimiento _____

Parentesco con el caso índice _____

Estado Civil: (Fecha Unión) _____

Ocupación U Oficio _____

Estudios Realizados _____

I. Antecedentes Personales:

1. Patológicos:

- Hepatopatías: hepatitis, cirrosis, ictericia, ascitis, edema (si, no)
- Sintomatología Psiquiátrica: cambios estados de ánimo, alteraciones sueño, pérdida súbita de peso, ideas suicidas, depresión, esquizofrenia, etc. (si, no)
- Sintomatología Neurológica: temblores, rigidez muscular, alteraciones de la postura o marcha, alteraciones habla, enfermedad de Parkinson) (si, no)

2. Quirúrgicos: Trasplante Hepático

3. Toxicológicos:

4. Farmacológicos

5. Alergias:

6. Hábitos:

II. ANTECEDENTES FAMILIARES:

1. Enfermedades genéticas, hepatopatías, enfermedades neurológicas y/o psiquiátricas.

2. Muerte prematura sin causa explicable

7.2 Anexo 2

TÍTULO DEL PROYECTO: ENFERMEDAD DE WILSON UN RETO DIAGNÓSTICO. REPORTE DE CASO

REF: TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE, SOLICITUD COPIA HISTORIA CLINICA, ENTREVISTA CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA, EXAMEN FÍSICO – FONDO DE OJO

Fecha: _____

Yo, _____ identificado con C.C. _____, he leído y comprendido la información relacionada con el estudio y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que se me tomará una muestra sangre, un examen físico, fondo de ojo, una entrevista clínico epidemiológica, se me solicitará una copia de mi historia clínica con fines de investigación. Se me informó y comprendo que hay total ausencia de riesgos mayores asociados al estudio, y cuál será el manejo que se le dará a la muestra. Entiendo que la información obtenida en el estudio puede ser publicada o difundida con fines científicos.

Autorización para almacenamiento y uso de muestras (marque con una X):

_____ Deseo que la muestra que se me tomó sea desechada una vez terminado el estudio.

Firma del tutor

Testigo No. 1. Nombre. Firma y Cédula

Testigo No. 2. Nombre. Firma. Cédula

Para ser diligenciado por el investigador:

He explicado al señor(a) _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; explicándole los beneficios de su participación. He contestado sus preguntas e inquietudes y aclarado toda duda existente al respecto. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigaciones con seres humanos y me apego a ella.

Investigador. Nombre. Firma. Cédula

8. Referencias Bibliográficas

1. Guerra Montero L, Ortega Álvarez F, Sumire Umeres J, Cok García J. Enfermedad de Wilson: forma hepática . [Internet]. Vol. 35, Revista de Gastroenterología del Perú . 2015. p. 361-5. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292015000400012
2. Foruny Olcina JR, Boixeda de Miquel D. Enfermedad de Wilson. Rev Española Enfermedades Dig [Internet]. 2010;102:53-4. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082010000100009&nrm=iso
3. Millán Jiménez A, Ruiz Moreno M. Enfermedad de Wilson. En: Ergón, editor. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. 2012.
4. Stenson PD, Mort M, Ball E V., Evans K, Hayden M, Heywood S, et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. Hum Genet [Internet]. 2017;136(6):665-77. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00439-017-1779-6>
5. Coffey AJ, Durkie M, Hague S, McLay K, Emmerson J, Lo C, et al. A genetic study of Wilson's disease in the United Kingdom. Brain [Internet]. mayo de 2013;136(5):1476-87. Disponible en: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awt035>
6. Ministerio de Salud y Protección social. Resolución 2048 [Internet]. Bogotá; 2015. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolución_2048_de_2015.pdf
7. Ministerio de Salud y Protección social. Ley 1392 [Internet]. Bogotá; 2010. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/ley-1392-de-2010.pdf>

8. Ministerio de Salud y Protección social. Decreto 1954 [Internet]. Bogotá; 2012. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Decreto-1954-de-2012.PDF>
9. Bandmann O, Weiss KH, Kaler SG. Wilson's disease and other neurological copper disorders. *Lancet Neurol* [Internet]. 2015;14(1):103-13. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1474442214701905>
10. Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing . *Hum Genet* [Internet]. 2006;120(2):151-9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00439-006-0202-5>
11. Dzieżyc K, Karliński M, Litwin T, Członkowska A. Compliant treatment with anti-copper agents prevents clinically overt Wilson's disease in pre-symptomatic patients. *Eur J Neurol* [Internet]. 2014;21(2):332-7. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/ene.12320>
12. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *J Hepatol* [Internet]. marzo de 2012;56(3):671-85. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827811008129>
13. Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update . *Hepatology* [Internet]. 2008;47(6):2089-111. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.22261>
14. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, Baumann U, D'Antiga L, Tanner S, et al. Wilson's Disease in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2018;66(2):334-44. Disponible en: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00005176-201802000-00032>
15. Broussolle E, Trocello J-M, Woimant F, Lachaux A, Quinn N. Samuel Alexander Kinnier Wilson. Wilson's disease, Queen Square and neurology . *Rev Neurol (Paris)* [Internet]. 2013;169(12):927-35. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0035378713008916>
16. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Wilson disease . *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2018;4(1):21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30190489>
17. Barbosa ER, Machado AAC, Cançado ELR, Deguti MM, Scaff M. Wilson's Disease: a case report and a historical review . *Arq Neuropsiquiatr* [Internet]. 2009;67(2b):539-43. Disponible en:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2009000300036&lng=en&tlng=en

18. López Hernández M, Serrano Rufino M. Enfermedad de Wilson: reporte de un caso y revisión de la literatura. *Med interna México* [Internet]. 2007;23(5):458-63. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=18434>
19. Walshe JM. History of Wilson disease. En 2017. p. 1-5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978044463625600001X>
20. Ferenci P. Guías de Práctica Clínica de la EASL: Enfermedad de Wilson. *J Hepatol* [Internet]. 2011;56:671–685. Disponible en: https://easl.eu/wp-content/uploads/2018/10/2012-Wilson_ES.pdf
21. Clark Feoktistova Y. Enfermedad de Wilson. Actualidad del tema [Internet]. Vol. 38, *Revista Médica Electrónica*. 2016. p. 57-66. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242016000100006&nrm=iso
22. Saito T. An assessment of efficiency in potential screening for Wilson's disease . *J Epidemiol Community Heal* [Internet]. 1981;35(4):274-80. Disponible en: <http://jech.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jech.35.4.274>
23. Bachmann H, Lössner J, Biesold D. Wilson's disease in the German Democratic Republic. I. Genetics and epidemiology . *Z Gesamte Inn Med* [Internet]. 1979;34(24):744-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/549306>
24. Xie J-J, Wu Z-Y. Wilson's Disease in China . *Neurosci Bull* [Internet]. 2017;33(3):323-30. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12264-017-0107-4>
25. Lo C, Bandmann O. Epidemiology and introduction to the clinical presentation of Wilson disease. En 2017. p. 7-17. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444636256000021>
26. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, et al. Wilson disease . *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2018;4(1):21. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41572-018-0018-3>
27. Svetel M, Pekmezović T, Petrović I, Tomić A, Kresojević N, Ješić R, et al. Long-term outcome in Serbian patients with Wilson disease . *Eur J Neurol* [Internet]. 2009;16(7):852-7. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1468-1331.2009.02607.x>

28. Beinhardt S, Leiss W, Stättermayer AF, Graziadei I, Zoller H, Stauber R, et al. Long-term Outcomes of Patients With Wilson Disease in a Large Austrian Cohort . *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2014;12(4):683-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1542356513014304>
29. Cumings JN. The copper and iron content of brain and liver in the normal and in hepato-lenticular degeneration . *Brain* [Internet]. 1948;71(Pt. 4):410-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18124738>
30. Gomes A, Dedoussis G V. Geographic distribution of ATP7B mutations in Wilson disease . *Ann Hum Biol* [Internet]. 2016;43(1):1-8. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03014460.2015.1051492>
31. Lang PA, Schenck M, Nicolay JP, Becker JU, Kempe DS, Lupescu A, et al. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide . *Nat Med* [Internet]. 2007;13(2):164-70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17259995>
32. Letelier ME, Sánchez-Jofré S, Peredo-Silva L, Cortés-Troncoso J, Aracena-Parks P. Mechanisms underlying iron and copper ions toxicity in biological systems: Pro-oxidant activity and protein-binding effects . *Chem Biol Interact* [Internet]. 2010;188(1):220-7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279710003959>
33. Mufti AR, Burstein E, Csomos RA, Graf PCF, Wilkinson JC, Dick RD, et al. XIAP Is a Copper Binding Protein Deregulated in Wilson's Disease and Other Copper Toxicosis Disorders . *Mol Cell* [Internet]. 2006;21(6):775-85. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1097276506000815>
34. Huster D, Finegold MJ, Morgan CT, Burkhead JL, Nixon R, Vanderwerf SM, et al. Consequences of Copper Accumulation in the Livers of the *Atp7b*^{-/-} (Wilson Disease Gene) Knockout Mice . *Am J Pathol* [Internet]. 2006;168(2):423-34. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010621037>
35. Ma J, Betts NM. Zinc and Copper Intakes and Their Major Food Sources for Older Adults in the 1994–96 Continuing Survey of Food Intakes by Individuals (CSFII) . *J Nutr* [Internet]. 2000;130(11):2838-43. Disponible en: <https://academic.oup.com/jn/article/130/11/2838/4686136>
36. Russell K, Gillanders LK, Orr DW, Plank LD. Dietary copper restriction in Wilson's disease. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2018;72(3):326-31. Disponible

en: <https://doi.org/10.1038/s41430-017-0002-0>

37. Maryon EB, Molloy SA, Kaplan JH. Cellular glutathione plays a key role in copper uptake mediated by human copper transporter 1 . *Am J Physiol Physiol* [Internet]. 2013;304(8):C768-79. Disponible en: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00417.2012>
38. Llanos RM, Michalczyk AA, Freestone DJ, Currie S, Linder MC, Ackland ML, et al. Copper transport during lactation in transgenic mice expressing the human ATP7A protein . *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2008;372(4):613-7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X08009881>
39. Hatori Y, Yan Y, Schmidt K, Furukawa E, Hasan NM, Yang N, et al. Neuronal differentiation is associated with a redox-regulated increase of copper flow to the secretory pathway . *Nat Commun* [Internet]. 2016;7(1):10640. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ncomms10640>
40. Baker ZN, Cobine PA, Leary SC. The mitochondrion: a central architect of copper homeostasis. *Metallomics* [Internet]. 2017;9(11):1501-12. Disponible en: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7MT00221A>
41. Xiao Z, Brose J, Schimo S, Ackland SM, La Fontaine S, Wedd AG. Unification of the copper(I) binding affinities of the metallo-chaperones Atx1, Atox1, and related proteins: detection probes and affinity standards . *J Biol Chem* [Internet]. 2011;286(13):11047-55. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258123>
42. Liggi M, Murgia D, Civolani A, Demelia E, Sorbello O, Demelia L. The relationship between copper and steatosis in Wilson's disease . *Clin Res Hepatol Gastroenterol* [Internet]. 2013;37(1):36-40. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210740112001192>
43. Muchenditsi A, Yang H, Hamilton JP, Koganti L, Housseau F, Aronov L, et al. Targeted inactivation of copper transporter Atp7b in hepatocytes causes liver steatosis and obesity in mice . *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2017;313(1):G39-49. Disponible en: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00312.2016>
44. Zhang H, Yan C, Yang Z, Zhang W, Niu Y, Li X, et al. Alterations of serum trace elements in patients with type 2 diabetes . *J Trace Elem Med Biol* [Internet]. 2017;40:91-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0946672X16302462>

45. Stättermayer AF, Traussnigg S, Aigner E, Kienbacher C, Huber-Schönauer U, Steindl-Munda P, et al. Low hepatic copper content and PNPLA3 polymorphism in non-alcoholic fatty liver disease in patients without metabolic syndrome . *J Trace Elem Med Biol* [Internet]. 2017;39:100-7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0946672X16302218>
46. Aigner E, Strasser M, Haufe H, Sonnweber T, Hohla F, Stadlmayr A, et al. A Role for Low Hepatic Copper Concentrations in Nonalcoholic Fatty Liver Disease . *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2010;105(9):1978-85. Disponible en: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00000434-201009000-00013>
47. Pierson H, Muchenditsi A, Kim B-E, Ralle M, Zachos N, Huster D, et al. The Function of ATPase Copper Transporter ATP7B in Intestine . *Gastroenterology* [Internet]. 2018;154(1):168-180.e5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508517361784>
48. Das A, Sudhakar V, Chen G-F, Kim HW, Youn S-W, Finney L, et al. Endothelial Antioxidant-1: a Key Mediator of Copper-dependent Wound Healing in vivo . *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(1):33783. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/srep33783>
49. Jurevics H, Hostettler J, Muse ED, Sammond DW, Matsushima GK, Toews AD, et al. Cerebroside synthesis as a measure of the rate of remyelination following cuprizone-induced demyelination in brain . *J Neurochem* [Internet]. 2001;77(4):1067-76. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1471-4159.2001.00310.x>
50. Urso E, Maffia M. Behind the Link between Copper and Angiogenesis: Established Mechanisms and an Overview on the Role of Vascular Copper Transport Systems . *J Vasc Res* [Internet]. 2015;52(3):172-96. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/438485>
51. Jain S, Cohen J, Ward MM, Kornhauser N, Chuang E, Cigler T, et al. Tetrathiomolybdate-associated copper depletion decreases circulating endothelial progenitor cells in women with breast cancer at high risk of relapse . *Ann Oncol* [Internet]. 2013;24(6):1491-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/annonc/article-lookup/doi/10.1093/annonc/mds654>
52. Mounajjed T, Oxentenko AS, Qureshi H, Smyrk TC. Revisiting the Topic of Histochemically Detectable Copper in Various Liver Diseases With Special Focus on Venous Outflow Impairment . *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2013;139(1):79-86. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcp/article/139/1/79/1766367>

53. Huster D. Structural and metabolic changes in Atp7b $-/-$ mouse liver and potential for new interventions in Wilson's disease . *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2014;1315(1):37-44. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/nyas.12337>
54. Lang PA, Schenck M, Nicolay JP, Becker JU, Kempe DS, Lupescu A, et al. Liver cell death and anemia in Wilson disease involve acid sphingomyelinase and ceramide . *Nat Med* [Internet]. 2007;13(2):164-70. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nm1539>
55. Sternlieb I. Mitochondrial and fatty changes in hepatocytes of patients with Wilson's disease . *Gastroenterology* [Internet]. 1968;55(3):354-67. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5675366>
56. Walshe JM, Potter G. The pattern of the whole body distribution of radioactive copper (^{67}Cu , ^{64}Cu) in Wilson's Disease and various control groups . *Q J Med* [Internet]. 1977;46(184):445-62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/413153>
57. Mikol J, Vital C, Wassef M, Chappuis P, Poupon J, Lecharpentier M, et al. Extensive cortico-subcortical lesions in Wilson's disease: clinico-pathological study of two cases . *Acta Neuropathol* [Internet]. 2005;110(5):451-8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00401-005-1061-1>
58. Horoupian DS, Sternlieb I, Scheinberg IH. Neuropathological findings in penicillamine-treated patients with Wilson's disease . *Clin Neuropathol* [Internet]. 7(2):62-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3390974>
59. Scheiber IF, Dringen R. Copper-treatment increases the cellular GSH content and accelerates GSH export from cultured rat astrocytes . *Neurosci Lett* [Internet]. 2011;498(1):42-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394011005428>
60. Meenakshi-Sundaram S, Mahadevan A, Taly AB, Arunodaya GR, Swamy HS, Shankar SK. Wilson's disease: a clinico-neuropathological autopsy study . *J Clin Neurosci* [Internet]. 2008;15(4):409-17. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18242093>
61. Dusek P, Bahn E, Litwin T, Jablonka-Salach K, Łuciuk A, Huelnhagen T, et al. Brain iron accumulation in Wilson disease: a post mortem 7 Tesla MRI - histopathological study . *Neuropathol Appl Neurobiol* [Internet]. 2017;43(6):514-32. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/nan.12341>

62. Svetel M, Kozić D, Stefanova E, Semnic R, Dragasevic N, Kostic VS. Dystonia in Wilson's disease . *Mov Disord* [Internet]. 2001;16(4):719-23. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11481698>
63. Iwański S, Seniów J, Leśniak M, Litwin T, Członkowska A. Diverse attention deficits in patients with neurologically symptomatic and asymptomatic Wilson's disease . *Neuropsychology* [Internet]. 2015;29(1):25-30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24885450>
64. Südmeyer M, Pollok B, Hefter H, Gross J, Butz M, Wojtecki L, et al. Synchronized brain network underlying postural tremor in Wilson's disease . *Mov Disord* [Internet]. 2006;21(11):1935-40. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.21104>
65. Prashanth LK, Sinha S, Taly AB, A.Mahadevan, Vasudev MK, Shankar SK. Spectrum of epilepsy in Wilson's disease with electroencephalographic, MR imaging and pathological correlates . *J Neurol Sci* [Internet]. 2010;291(1-2):44-51. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022510X10000158>
66. Langwińska-Wośko E, Litwin T, Dzieżyc K, Karlinski M, Członkowska A. Optical coherence tomography as a marker of neurodegeneration in patients with Wilson's disease . *Acta Neurol Belg* [Internet]. 2017;117(4):867-71. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s13760-017-0788-5>
67. Langwińska-Wośko E, Litwin T, Szulborski K, Członkowska A. Optical coherence tomography and electrophysiology of retinal and visual pathways in Wilson's disease . *Metab Brain Dis* [Internet]. 2016;31(2):405-15. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11011-015-9776-8>
68. Miranda M, Venegas P. El anillo de Kayser-Fleischer como signo diagnóstico en la Enfermedad de Wilson . *Rev Chil Neuropsiquiatr* [Internet]. 2002;40(2). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272002000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=en
69. Sullivan CA. Dense Kayser-Fleischer ring in asymptomatic Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2002;86(1):114-114. Disponible en: <http://bjo.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bjo.86.1.114>
70. Padilla Galindo H, Serrano A, Polo A, García R, Acosta Reyes J, Navarro-Jiménez E. Caracterización clínica-epidemiológica de las glomerulonefritis primarias un centro de referencia de caribe colombiano, en niños menores de 15 años, de enero 2008 a diciembre 2013. *Rev Colomb Nefrol* [Internet]. 2014;1. Disponible en:

<http://www.revistanefrologia.org/index.php/rcn/article/view/152>

71. Aroca-Martínez G, González-Torres HJ, Domínguez-Vargas A, Fontalvo-Pastorizo J, Silva-Díaz D, Cadena-Bonfanti A. Respuesta a la farmacoterapia en pacientes con glomerulonefritis membranoproliferativa en una clínica de Barranquilla, Colombia. 2007-2014. Rev la Fac Med [Internet]. 1 de julio de 2018;66(3):301-5. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/63178>
72. Castillo Parodi L, Navarro Jiménez, Eduardo Arango Quiroz Y, López Avendaño, Anderson Mejía Varela V, González Torres, Henry J Aroca Martínez G. Asociación de obesidad con la Enfermedad Renal Crónica de pacientes atendidos en la Clínica de la Costa. 2005-2014. Rev Colomb Nefrol [Internet]. 2016;3(1). Disponible en: <http://www.revistanefrologia.org/index.php/rcn/article/view/217>
73. Walshe JM. The acute haemolytic syndrome in Wilson's disease--a review of 22 patients. QJM [Internet]. 2013;106(11):1003-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/qjmed/article-lookup/doi/10.1093/qjmed/hct137>
74. Forman SJ, Kumar KS, Redeker AG, Hochstein P. Hemolytic anemia in Wilson disease: clinical findings and biochemical mechanisms . Am J Hematol [Internet]. 1980;9(3):269-75. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7234865>
75. Benders AA, Li J, Lock RA, Bindels RJ, Bonga SE, Veerkamp JH. Copper toxicity in cultured human skeletal muscle cells: the involvement of Na⁺/K⁽⁺⁾-ATPase and the Na⁺/Ca⁽²⁺⁾-exchanger . Pflugers Arch [Internet]. 1994;428(5-6):461-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7838667>
76. Hogland HC, Goldstein NP. Hematologic (cytopenic) manifestations of Wilson's disease (hepatolenticular degeneration) . Mayo Clin Proc [Internet]. 1978;53(8):498-500. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/682676>
77. Dzieżyc K, Litwin T, Członkowska A. Other organ involvement and clinical aspects of Wilson disease . Handb Clin Neurol [Internet]. 2017;142:157-69. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28433099>
78. Zhuang X-H, Mo Y, Jiang X-Y, Chen S-M. Analysis of renal impairment in children with Wilson's disease . World J Pediatr [Internet]. 2008;4(2):102-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18661763>

79. Weiss KH, Van de Moortele M, Gotthardt DN, Pfeiffenberger J, Seeßle J, Ullrich E, et al. Bone demineralisation in a large cohort of Wilson disease patients . *J Inherit Metab Dis* [Internet]. 2015;38(5):949-56. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1007/s10545-015-9815-y>
80. Menerey KA, Eider W, Brewer GJ, Braunstein EM, Schumacher HR, Fox IH. The arthropathy of Wilson's disease: clinical and pathologic features. *J Rheumatol* [Internet]. 1988;15(2):331-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3361541>
81. Buksińska-Lisik M, Litwin T, Pasiński T, Członkowska A. Cardiac assessment in Wilson's disease patients based on electrocardiography and echocardiography examination. *Arch Med Sci* [Internet]. 2019;15(4):857-64. Disponible en: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/aoms.2017.69728>
82. Lewis D, Pilankatta R, Inesi G, Bartolommei G, Moncelli MR, Tadini-Buoninsegni F. Distinctive Features of Catalytic and Transport Mechanisms in Mammalian Sarco-endoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) and Cu⁺ (ATP7A/B) ATPases. *J Biol Chem* [Internet]. 2012;287(39):32717-27. Disponible en: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M112.373472>
83. Pilankatta R, Lewis D, Inesi G. Involvement of Protein Kinase D in Expression and Trafficking of ATP7B (Copper ATPase) . *J Biol Chem* [Internet]. 2011;286(9):7389-96. Disponible en: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M110.171454>
84. Hatori Y, Hirata A, Toyoshima C, Lewis D, Pilankatta R, Inesi G. Intermediate Phosphorylation Reactions in the Mechanism of ATP Utilization by the Copper ATPase (CopA) of *Thermotoga maritima* . *J Biol Chem* [Internet]. 2008;283(33):22541-9. Disponible en: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M802735200>
85. Inesi G, Pilankatta R, Tadini-Buoninsegni F. Biochemical characterization of P-type copper ATPases. *Biochem J* [Internet]. 2014;463(2):167-76. Disponible en: <https://portlandpress.com/biochemj/article/463/2/167/48328/Biochemical-characterization-of-Ptype-copper>
86. Kaplan JH, Lutsenko S. Copper Transport in Mammalian Cells: Special Care for a Metal with Special Needs. *J Biol Chem* [Internet]. 2009;284(38):25461-5. Disponible en: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.R109.031286>
87. González-Guerrero M, Hong D, Argüello JM. Chaperone-mediated Cu⁺ Delivery to Cu⁺ Transport ATPases. *J Biol Chem* [Internet].

- 2009;284(31):20804-11. Disponible en:
<http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M109.016329>
88. La Fontaine S, Mercer JFB. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: Role in copper homeostasis . Arch Biochem Biophys [Internet]. 2007;463(2):149-67. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000398610700210X>
89. Argüello JM, Eren E, González-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport P1B-ATPases . BioMetals [Internet]. 2007;20(3-4):233-48. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10534-006-9055-6>
90. Argüello JM. Identification of Ion-Selectivity Determinants in Heavy-Metal Transport P 1B -type ATPases. J Membr Biol [Internet]. 2003;195(2):93-108. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00232-003-2048-2>
91. Arnesano F. Metallochaperones and Metal-Transporting ATPases: A Comparative Analysis of Sequences and Structures . Genome Res [Internet]. 2002;12(2):255-71. Disponible en:
<http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.196802>
92. Labes A, Schonheit P. Unusual Starch Degradation Pathway via Cyclodextrins in the Hyperthermophilic Sulfate-Reducing Archaeon *Archaeoglobus fulgidus* Strain 7324 . J Bacteriol [Internet]. 2007;189(24):8901-13. Disponible en:
<http://jb.asm.org/cgi/doi/10.1128/JB.01136-07>
93. Harris ED. Cellular Copper Transport and Metabolism . Annu Rev Nutr [Internet]. 2000;20(1):291-310. Disponible en:
<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.nutr.20.1.291>
94. Sitthisak S, Kitti T, Boonyonying K, Wozniak D, Mongkolsuk S, Jayaswal RK. McsA and the roles of metal-binding motif in *Staphylococcus aureus* . FEMS Microbiol Lett [Internet]. 2012;327(2):126-33. Disponible en:
<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2011.02468.x>
95. Wu C-C, Rice WJ, Stokes DL. Structure of a Copper Pump Suggests a Regulatory Role for Its Metal-Binding Domain . Structure [Internet]. 2008;16(6):976-85. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969212608001512>
96. Tsuda T, Toyoshima C. Nucleotide recognition by CopA, a Cu⁺-transporting

- P-type ATPase . EMBO J [Internet]. 2009;28(12):1782-91. Disponible en: <http://emboj.embopress.org/cgi/doi/10.1038/emboj.2009.143>
97. Sazinsky MH, Agarwal S, Argüello JM, Rosenzweig AC. Structure of the Actuator Domain from the Archaeoglobus fulgidus Cu + -ATPase . Biochemistry [Internet]. 2006;45(33):9949-55. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi0610045>
 98. Wu C-C, Allen GS, Stokes DL. Structure of CopA from Archaeoglobus Fulgidus by Cryoelectron Microscopy . Biophys J [Internet]. 2010;98(3):168a. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000634950902712X>
 99. Vulpe C, Levinson B, Whitney S, Packman S, Gitschier J. Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase . Nat Genet [Internet]. 1993;3(1):7-13. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ng0193-7>
 100. Petrukhin K, Lutsenko S, Chernov I, Ross BM, Kaplan JH, Gilliam TC. Characterization of the Wilson disease gene encoding a P-type copper transporting ATPase: genomic organization, alternative splicing, and structure/function predictions . Hum Mol Genet [Internet]. 1994;3(9):1647-56. Disponible en: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/3.9.1647>
 101. La Fontaine S, Mercer JFB. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: Role in copper homeostasis . Arch Biochem Biophys [Internet]. 2007;463(2):149-67. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000398610700210X>
 102. Gourdon P, Sitsel O, Karlsen JL, Møller LB, Nissen P. Structural models of the human copper P-type ATPases ATP7A and ATP7B. Biol Chem [Internet]. 2012;393(4):205-16. Disponible en: <http://www.degruyter.com/view/j/bchm.2012.393.issue-4/hsz-2011-0249/hsz-2011-0249.xml>
 103. Badenas C. Utilidad del estudio genético en el diagnóstico e intervención familiar en la enfermedad de Wilson . En: Enfermedad de Wilson [Internet]. Barcelona; 2015. Disponible en: <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2015/12/1.-Celia-Badenas.pdf>
 104. Human Gene Mutation Database. The Human Gene Mutation Database (HGMD) [Internet]. Disponible en: <http://www.hgmd.org>

105. The Universal Mutation Database. The ATP7B mutations database [Internet]. Disponible en: <http://www.umd.be/ATP7B/>
106. University of Alberta. Wilson Disease Mutation Database [Internet]. Disponible en: <http://www.wilsondisease.med.ualberta.ca/>
107. Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F, Polli C, Glant TT, Ferenci P. Common mutations of ATP7B in Wilson disease patients from Hungary. *Am J Med Genet* [Internet]. 2002;108(1):23-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11857545>
108. de Bie P, van de Sluis B, Burstein E, van de Berghe PVE, Muller P, Berger R, et al. Distinct Wilson's Disease Mutations in ATP7B Are Associated With Enhanced Binding to COMMD1 and Reduced Stability of ATP7B. *Gastroenterology* [Internet]. 2007;133(4):1316-26. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001650850701400X>
109. Huster D, Kühne A, Bhattacharjee A, Raines L, Jantsch V, Noe J, et al. Diverse Functional Properties of Wilson Disease ATP7B Variants. *Gastroenterology* [Internet]. 2012;142(4):947-956.e5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508512000169>
110. Ferenci P, Roberts EA. Defining Wilson Disease Phenotypes: From the Patient to the Bench and Back Again. *Gastroenterology* [Internet]. 2012;142(4):692-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508512002491>
111. Merle U, Weiss KH, Eisenbach C, Tuma S, Ferenci P, Stremmel W. Truncating mutations in the Wilson disease gene ATP7B are associated with very low serum ceruloplasmin oxidase activity and an early onset of Wilson disease. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2010;10(1):8. Disponible en: <https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-10-8>
112. Okada T, Shiono Y, Kaneko Y, Miwa K, Hasatani K, Hayashi Y, et al. High prevalence of fulminant hepatic failure among patients with mutant alleles for truncation of ATP7B in Wilson's disease. *Scand J Gastroenterol* [Internet]. 2010;45(10):1232-7. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365521.2010.492527>
113. Usta J, Wehbeh A, Rida K, El-Rifai O, Estiphan TA, Majarian T, et al. Phenotype-Genotype Correlation in Wilson Disease in a Large Lebanese Family: Association of c.2299insC with Hepatic and of p. Ala1003Thr with Neurologic Phenotype. Dmitriev OY, editor. *PLoS One* [Internet].

2014;9(11):e109727. Disponible en:
<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0109727>

114. Cocoş R, Şendroi A, Schipor S, Bohîltea LC, Şendroi I, Raicu F. Genotype-Phenotype Correlations in a Mountain Population Community with High Prevalence of Wilson's Disease: Genetic and Clinical Homogeneity . Dermaut B, editor. PLoS One [Internet]. 2014;9(6):e98520. Disponible en: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0098520>
115. Mukherjee S, Dutta S, Majumdar S, Biswas T, Jaiswal P, Sengupta M, et al. Genetic defects in Indian Wilson disease patients and genotype–phenotype correlation . Parkinsonism Relat Disord [Internet]. 2014;20(1):75-81. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1353802013003519>
116. Frydman M, Bonne-Tamir B, Farrer LA, Conneally PM, Magazanik A, Ashbel S, et al. Assignment of the gene for Wilson disease to chromosome 13: linkage to the esterase D locus . Proc Natl Acad Sci [Internet]. 1985;82(6):1819-21. Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.82.6.1819>
117. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P–type ATPase similar to the Menkes gene . Nat Genet [Internet]. 1993;5(4):327-37. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ng1293-327>
118. Yamaguchi Y, Heiny ME, Gitlin JD. Isolation and characterization of a human liver cDNA as a candidate gene for Wilson disease . Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1993;197(1):271-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8250934>
119. Petrukhin K, Lutsenko S, Chernov I, Ross BM, Kaplan JH, Gilliam TC. Characterization of the Wilson disease gene encoding a P-type copper transporting ATPase: genomic organization, alternative splicing, and structure/function predictions . Hum Mol Genet [Internet]. septiembre de 1994;3(9):1647-56. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7833924>
120. Fanni D, Pilloni L, Orrù S, Coni P, Liguori C, Serra S, et al. Expression of ATP7B in normal human liver . Eur J Histochem [Internet]. 49(4):371-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16377579>
121. Gupta A, Chattopadhyay I, Dey S, Nasipuri P, Das SK, Gangopadhyay PK, et al. Molecular Pathogenesis of Wilson Disease Among Indians: A

Perspective on Mutation Spectrum in ATP7B gene, Prevalent Defects, Clinical Heterogeneity and Implication Towards Diagnosis . Cell Mol Neurobiol [Internet]. 2007;27(8):1023-33. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10571-007-9192-7>

122. Ferenci P, Członkowska A, Merle U, Ferenc S, Gromadzka G, Yurdaydin C, et al. Late-onset Wilson's disease . Gastroenterology [Internet]. 2007;132(4):1294-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17433323>
123. Aggarwal A, Chandhok G, Todorov T, Parekh S, Tilve S, Zibert A, et al. Wilson disease mutation pattern with genotype-phenotype correlations from Western India: confirmation of p.C271* as a common Indian mutation and identification of 14 novel mutations . Ann Hum Genet [Internet]. 2013;77(4):299-307. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551039>
124. Gupta A, Aikath D, Neogi R, Datta S, Basu K, Maity B, et al. Molecular pathogenesis of Wilson disease: haplotype analysis, detection of prevalent mutations and genotype-phenotype correlation in Indian patients . Hum Genet [Internet]. 2005;118(1):49-57. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00439-005-0007-y>
125. Kumar S, Thapa B, Kaur G, Prasad R. Analysis of most common mutations R778G, R778L, R778W, I1102T and H1069Q in Indian Wilson disease patients: correlation between genotype/phenotype/copper ATPase activity . Mol Cell Biochem [Internet]. 2007;294(1-2):1-10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17160357>
126. Santhosh S, Shaji R V, Eapen CE, Jayanthi V, Malathi S, Chandy M, et al. ATP7B mutations in families in a predominantly Southern Indian cohort of Wilson's disease patients . Indian J Gastroenterol [Internet]. 25(6):277-82. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17264425>
127. Okada T, Shiono Y, Hayashi H, Satoh H, Sawada T, Suzuki A, et al. Mutational analysis of ATP7B and genotype-phenotype correlation in Japanese with Wilson's disease . Hum Mutat [Internet]. 2000;15(5):454-62. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291098-1004%28200005%2915%3A5%3C454%3A%3AAID-HUMU7%3E3.0.CO%3B2-J>
128. Al Jumah M, Majumdar R, Al Rajeh S, Awada A, Al Zaben A, Al Traif I, et al. A clinical and genetic study of 56 Saudi Wilson disease patients: identification of Saudi-specific mutations . Eur J Neurol [Internet].

2004;11(2):121-4. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14748773>

129. Stättermayer AF, Traussnigg S, Dienes H-P, Aigner E, Stauber R, Lackner K, et al. Hepatic steatosis in Wilson disease – Role of copper and PNPLA3 mutations . *J Hepatol* [Internet]. 2015;63(1):156-63. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827815000719>
130. Pingitore P, Pirazzi C, Mancina RM, Motta BM, Indiveri C, Pujia A, et al. Recombinant PNPLA3 protein shows triglyceride hydrolase activity and its I148M mutation results in loss of function . *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2014;1841(4):574-80. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388198113002795>
131. Schiefermeier M. The impact of apolipoprotein E genotypes on age at onset of symptoms and phenotypic expression in Wilson's disease . *Brain* [Internet]. 2000;123(3):585-90. Disponible en: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/123.3.585>
132. Litwin T, Gromadzka G, Członkowska A. Apolipoprotein E gene (APOE) genotype in Wilson's disease: Impact on clinical presentation . *Parkinsonism Relat Disord* [Internet]. 2012;18(4):367-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1353802011004305>
133. Stuehler B, Reichert J, Stremmel W, Schaefer M. Analysis of the human homologue of the canine copper toxicosis gene MURR1 in Wilson disease patients . *J Mol Med* [Internet]. 2004;82(9). Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00109-004-0557-9>
134. Lovicu M, Dessì V, Lepori MB, Zappu A, Zancan L, Giacchino R, et al. The canine copper toxicosis gene MURR1 is not implicated in the pathogenesis of Wilson disease. *J Gastroenterol* [Internet]. 24 de julio de 2006;41(6):582-7. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00535-006-1807-0>
135. Wu Z-Y, Zhao G-X, Chen W-J, Wang N, Wan B, Lin M-T, et al. Mutation analysis of 218 Chinese patients with Wilson disease revealed no correlation between the canine copper toxicosis gene MURR1 and Wilson disease . *J Mol Med* [Internet]. 2006;84(5):438-42. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00109-005-0036-y>
136. Simon I, Schaefer M, Reichert J, Stremmel W. Analysis of the human Atox 1 homologue in Wilson patients . *World J Gastroenterol* [Internet]. 2008;14(15):2383. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v14/i15/2383.htm>

137. Lee BH, Kim JH, Lee SY, Jin HY, Kim K-J, Lee J-J, et al. Distinct clinical courses according to presenting phenotypes and their correlations to ATP7B mutations in a large Wilson's disease cohort . *Liver Int* [Internet]. 2011;31(6):831-9. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1478-3231.2011.02503.x>
138. Bost M, Piguet-Lacroix G, Parant F, Wilson CMR. Molecular analysis of Wilson patients: Direct sequencing and MLPA analysis in the ATP7B gene and Atox1 and COMMD1 gene analysis . *J Trace Elem Med Biol* [Internet]. 2012;26(2-3):97-101. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0946672X12000806>
139. Senzolo M, Loreno M, Fagioli S, Zanusi G, Canova D, Masier A, et al. Different neurological outcome of liver transplantation for Wilson's disease in two homozygotic twins . *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2007;109(1):71-5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303846706000126>
140. Kegley KM, Sellers MA, Ferber MJ, Johnson MW, Joelson DW, Shrestha R. Fulminant Wilson's Disease Requiring Liver Transplantation in One Monozygotic Twin Despite Identical Genetic Mutation . *Am J Transplant* [Internet]. 2010;10(5):1325-9. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-6143.2010.03071.x>
141. Członkowska A, Gromadzka G, Chabik G. Monozygotic female twins discordant for phenotype of Wilson's disease. *Mov Disord* [Internet]. 2009;24(7):1066-9. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.22474>
142. Bethin KE, Cimato TR, Ettinger MJ. Copper Binding to Mouse Liver S - Adenosylhomocysteine Hydrolase and the Effects of Copper on Its Levels . *J Biol Chem* [Internet]. 1995;270(35):20703-11. Disponible en: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.270.35.20703>
143. Delgado M, Pérez-Miguelsanz J, Garrido F, Rodríguez-Tarduchy G, Pérez-Sala D, Pajares MA. Early effects of copper accumulation on methionine metabolism . *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2008;65(13):2080-90. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-008-8201-4>
144. Medici V, Shibata NM, Kharbanda KK, LaSalle JM, Woods R, Liu S, et al. Wilson's disease: Changes in methionine metabolism and inflammation affect global DNA methylation in early liver disease . *Hepatology* [Internet]. 2013;57(2):555-65. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/hep.26047>
145. Medici V, Shibata NM, Kharbanda KK, Islam MS, Keen CL, Kim K, et al.

Maternal choline modifies fetal liver copper, gene expression, DNA methylation, and neonatal growth in the tx-j mouse model of Wilson disease . Epigenetics [Internet]. 2014;9(2):286-96. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/epi.27110>

146. Bem RS de, Raskin S, Muzzillo DA, Deguti MM, Cancado ELR, Araujo TF, et al. Wilson's disease in Southern Brazil: genotype-phenotype correlation and description of two novel mutations in ATP7B gene . Arq Neuropsiquiatr [Internet]. 2013;71(8):503-7. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-282X2013000800503&lng=en&tlng=en
147. Machado AAC, Deguti MM, Genschel J, Cançado ELR, Bochow B, Schmidt H, et al. Neurological manifestations and ATP7B mutations in Wilson's disease . Parkinsonism Relat Disord [Internet]. 2008;14(3):246-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135380200700171X>
148. Gupta S. Cell therapy to remove excess copper in Wilson's disease . Ann N Y Acad Sci [Internet]. 2014;1315(1):70-80. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/nyas.12450>
149. Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. Resolución 8430 de 1993. Colombia; 1993 p. 12.
150. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 1964 p. 6.
151. Nagel J, Miralles S. Enfermedad de Wilson: comienzo con síntomas psiquiátricos. Hallazgos en resonancia magnética encefálica . Rev Argentina Radiol [Internet]. 2007;71(3):267-71. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382538453004>
152. Pulido JN, Alfonso L, Medina ADC, Guillermo J, Tamayo S, Medina JCR. Enfermedad de Wilson. Acta Médica Colomb [Internet]. 2002; Disponible en: <http://actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/03-2002-09.htm>
153. Ha-Hao D, Hefter H, Stremmel W, Castañeda-Guillot C, Hernández AH, Cox DW, et al. His1069Gln and six novel Wilson disease mutations: analysis of relevance for early diagnosis and phenotype. Eur J Hum Genet [Internet]. 1998;6(6):616-23. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/5200237>
154. Whisstock JC, Lesk AM. Prediction of protein function from protein sequence and structure . Q Rev Biophys [Internet]. 2003;36(3):307-40. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0033583503003901/type/>

journal_article

155. Margarit E, Bach V, Gómez D, Bruguera M, Jara P, Queralt R, et al. Mutation analysis of Wilson disease in the Spanish population - identification of a prevalent substitution and eight novel mutations in the ATP7B gene . Clin Genet [Internet]. 2005;68(1):61-8. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-0004.2005.00439.x>
156. Brage A, Tomé S, García A, Carracedo Á, Salas A. Clinical and molecular characterization of Wilson disease in Spanish patients . Hepatol Res [Internet]. 2007;37(1):18-26. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1872-034X.2007.00010.x>
157. Arnab Gupta, Svetlana Lutsenko. Evolution of Copper Transporting ATPases in Eukaryotic Organisms . Curr Genomics [Internet]. 2012;13(2):124-33. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-2029&volume=13&issue=2&spage=124>
158. Príncipe Felipe. Genetics and Genomics of Neuromuscular and Neurodegenerative Diseases . [Internet]. Disponible en: http://espinos.cipf.es/images/articulos/ATP7B_Tabla_Mutaciones.pdf
159. Paradisi I, De Freitas L, Arias S. Most frequent mutation c.3402delC (p.Ala1135GlnfsX13) among Wilson disease patients in Venezuela has a wide distribution and two old origins . Eur J Med Genet [Internet]. 2015;58(2):59-65. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1769721214002195>
160. Loudianos G, Dessì V, Lovicu M, Angius A, Kanavakis E, Tzetis M, et al. Haplotype and mutation analysis in Greek patients with Wilson disease . Eur J Hum Genet [Internet]. 1998;6(5):487-91. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/5200219>
161. Li Y-Q, Zhang X-Y, Chen J, Yin J-Y, Li X-P. ATP7B rs9535826 is associated with gastrointestinal toxicity of platinum-based chemotherapy in nonsmall cell lung cancer patients . J Cancer Res Ther [Internet]. 2018;14(4):881. Disponible en: <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2018/14/4/881/235102>
162. Alemany S, Vilor-Tejedor N, Bustamante M, Álvarez-Pedrerol M, Rivas I, Forns J, et al. Interaction between airborne copper exposure and ATP7B polymorphisms on inattentiveness in scholar children . Int J Hyg Environ Health [Internet]. 2017;220(1):51-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438463916302577>

163. Squitti R, Ventriglia M, Gennarelli M, Colabufo NA, El Idrissi IG, Bucossi S, et al. Non-Ceruloplasmin Copper Distincts Subtypes in Alzheimer's Disease: a Genetic Study of ATP7B Frequency . Mol Neurobiol [Internet]. 2017;54(1):671-81. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-015-9664-6>
164. Aloisio M, Licastro D, Caenazzo L, Torboli V, D'eustacchio A, Severini GM, et al. A technical application of quantitative next generation sequencing for chimerism evaluation . Mol Med Rep [Internet]. 2016;14(4):2967-74. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2016.5593>
165. Hua R, Hua F, Jiao Y, Pan Y, Yang X, Peng S, et al. Mutational analysis of ATP7B in Chinese Wilson disease patients . Am J Transl Res [Internet]. 2016;8(6):2851-61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27398169>
166. Li X-P, Yin J-Y, Wang Y, He H, Li X, Gong W-J, et al. The ATP7B genetic polymorphisms predict clinical outcome to platinum-based chemotherapy in lung cancer patients . Tumor Biol [Internet]. 2014;35(8):8259-65. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s13277-014-2072-0>
167. Squitti R, Polimanti R, Bucossi S, Ventriglia M, Mariani S, Manfellotto D, et al. Linkage Disequilibrium and Haplotype Analysis of the ATP7B Gene in Alzheimer's Disease . Rejuvenation Res [Internet]. febrero de 2013;16(1):3-10. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/rej.2012.1357>
168. Bucossi S, Polimanti R, Mariani S, Ventriglia M, Bonvicini C, Migliore S, et al. Association of K832R and R952K SNPs of Wilson's Disease Gene with Alzheimer's Disease . J Alzheimer's Dis [Internet]. 2012;29(4):913-9. Disponible en: <http://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JAD-2012-111997>
169. Wu Z-Y, Wang N, Lin M-T, Fang L, Murong S-X, Yu L. Mutation Analysis and the Correlation Between Genotype and Phenotype of Arg778Leu Mutation in Chinese Patients With Wilson Disease . Arch Neurol [Internet]. 2001;58(6):971. Disponible en: <http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archneur.58.6.971>
170. Squitti R, Ventriglia M, Gennarelli M, Colabufo NA, El Idrissi IG, Bucossi S, et al. Non-Ceruloplasmin Copper Distincts Subtypes in Alzheimer's Disease: a Genetic Study of ATP7B Frequency. Mol Neurobiol [Internet]. 12 de enero

- de 2017;54(1):671-81. Disponible en:
<http://link.springer.com/10.1007/s12035-015-9664-6>
171. Lavrov A V., Chelysheva EY, Smirnikhina SA, Shukhov OA, Turkina AG, Adilgereeva EP, et al. Frequent variations in cancer-related genes may play prognostic role in treatment of patients with chronic myeloid leukemia . BMC Genet [Internet]. 2016;17(S1):S14. Disponible en:
<http://bmcgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-015-0308-7>
172. Tecza K, Pamula-Pilat J, Kolosza Z, Radlak N, Grzybowska E. Genetic polymorphisms and gene-dosage effect in ovarian cancer risk and response to paclitaxel/cisplatin chemotherapy . J Exp Clin Cancer Res [Internet]. 2015;34(1):2. Disponible en:
<http://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-015-0124-y>
173. Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, Walshe JM, Cox DW. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences . Nat Genet [Internet]. 1995;9(2):210-7. Disponible en:
<http://www.nature.com/articles/ng0295-210>
174. Cox DW, Prat L, Walshe JM, Heathcote J, Gaffney D. Twenty-four novel mutations in Wilson disease patients of predominantly European ancestry . Hum Mutat [Internet]. 2005;26(3):280-280. Disponible en:
<http://doi.wiley.com/10.1002/humu.9358>
175. Olsson C, Waldenström E, Westermark K, Landegren U, Syvänen A-C. Determination of the frequencies of ten allelic variants of the Wilson disease gene (ATP7B), in pooled DNA samples . Eur J Hum Genet [Internet]. 2000;8(12):933-8. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/5200566>
176. Figus A, Angius A, Loudianos G, Bertini C, Dessi V, Loi A, et al. Molecular pathology and haplotype analysis of Wilson disease in Mediterranean populations . Am J Hum Genet [Internet]. 1995;57(6):1318-24. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1801406>
177. Tomić A, Dobričić V, Novaković I, Svetel M, Pekmezović T, Kresojević N, et al. Mutational analysis of ATP7B gene and the genotype-phenotype correlation in patients with Wilson's disease in Serbia . Vojnosanit Pregl [Internet]. 2013;70(5):457-62. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23789284>
178. Kucinskas L, Jeroch J, Vitkauskiene A, Sakalauskas R, Petrenkiene V, Kucinskas V, et al. High frequency of the c.3207C>A (p.H1069Q) mutation in ATP7B gene of Lithuanian patients with hepatic presentation of Wilson's

- disease. World J Gastroenterol [Internet]. 2008;14(38):5876. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v14/i38/5876.htm>
179. Liu X-Q. Correlation of ATP7B genotype with phenotype in Chinese patients with Wilson disease . World J Gastroenterol [Internet]. 2004;10(4):590. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v10/i4/590.htm>
180. Kumari N, Kumar A, Thapa BR, Modi M, Pal A, Prasad R. Characterization of mutation spectrum and identification of novel mutations in ATP7B gene from a cohort of Wilson disease patients: Functional and therapeutic implications . Hum Mutat [Internet]. 2018;39(12):1926-41. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/humu.23614>
181. Leung M, Wu Lanzafame J, Medici V. Switching Pharmacological Treatment in Wilson Disease: Case Report and Recommendations. J Investig Med High Impact Case Reports [Internet]. 10 de enero de 2020;8:232470961989687. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2324709619896876>
182. Jacquélet E, Beretti J, De-Tassigny A, Girardot-Tinant N, Wenisch E, Lachaux A, et al. L'observance dans la maladie de Wilson : intérêt d'un suivi rapproché au long cours. La Rev Médecine Interne [Internet]. marzo de 2018;39(3):155-60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0248866317311827>
183. Gonzalez CP, Illera EF, Cárdenas CL, Jimenez EN, Mendez PG, Peralta VV, et al. Screening of Anxiety and Depression in Patients With Fibromyalgia From 18 to 65 Years Old and Its Relationship With the Severity of Fibromyalgia and Quality of Life. Glob J Health Sci [Internet]. 5 de noviembre de 2018;10(12):12. Disponible en: <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/gjhs/article/view/0/37317>
184. Reales JM, Navarro-Jiménez E, Laborde-Cárdenas C, Gómez-Méndez P, Narvaez LCL. Implementation Plan of the Clinical Practice Guideline for the Early Detection, Diagnosis and Treatment of Patients With Alcohol Abuse or Dependence in a Colombian Hospital. Glob J Health Sci [Internet]. 11 de agosto de 2018;10(9):89. Disponible en: <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/gjhs/article/view/76504>
185. Lucía, Rodríguez P, Óscar, Zurriaga Llorens MEGSC, Carbonell C. LA ENFERMEDAD DE WILSON: LAS DIVERSAS PERSPECTIVAS DEL PROFESIONAL SANITARIO, AFECTADO Y FAMILIAR. Rev Esp Salud Publica [Internet]. 2019;93(1). Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/r evista_cdrom/VOL93/O_BREVES/RS93C_201904014.pdf

186. Poujois A, Woimant F. Challenges in the diagnosis of Wilson disease. *Ann Transl Med* [Internet]. abril de 2019;7(S2):S67-S67. Disponible en: <http://atm.amegroups.com/article/view/24633/23691>
187. Valentino PL, Roberts EA, Beer S, Miloh T, Arnon R, Vittorio JM, et al. Management of Wilson Disease Diagnosed in Infancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. enero de 2020;1. Disponible en: <http://journals.lww.com/10.1097/MPG.0000000000002608>
188. Navarro-Jimenez EI, Aroca Martínez G, Castillo LA, Gonzalez-Torres H. Membranoproliferative Glomerulonephritis C3 Deposits: Clinicopathological Study. *J Am Soc Nephrol*. 2015;
189. Castillo LA, Navarro-Jimenez EI, López I, Camacho K, Olivero M, Aroca Martínez G, et al. Membranoproliferative Glomerulonephritis C3 deposits: Clinicopathological Study. *American J Nephrol* [Internet]. 2015;26(2015):459A. Disponible en: <https://www.asn-online.org/education/kidneyweek/archives/>
190. Navarro Jimenez E, Aroca Martínez G, Santos D. Implementación de un modelo de salud renal en red informática para la temprana detección y cuidado de la nefropatía primaria lúpica y glomerulonefritis en la Región Caribe Colombiana. *Rev Colomb Nefrol* [Internet]. 2014;1. Disponible en: <http://www.revistanefrologia.org/index.php/rcn/article/view/145>
191. Castillo Parodi L, Navarro Jiménez E, Arango Quiroz Y, López Avendaño A, Mejía Varela V, González Torres HJ, et al. Obesity Association with Chronic Renal Disease in Patients attended at Clínica de la Costa. Barranquilla, Colombia. 2005-2014. *Rev Colomb Nefrol* [Internet]. 1 de enero de 2016;3(1):14-9. Disponible en: <http://www.revistanefrologia.org/index.php/rcn/article/view/217/pdf>
192. Poon K-S, Teo ZH, Yap JH, Koay ES, Tan K. Challenges in molecular diagnosis of Wilson disease: viewpoint from the clinical laboratory. *J Clin Pathol* [Internet]. 3 de diciembre de 2019;jclinpath-2019-206054. Disponible en: <http://jcp.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jclinpath-2019-206054>
193. Zhu Q, Zhu K, Wang J, Bian W, Lu J. Relationship between genetic mutations and clinical phenotypes in patients with Wilson disease. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. diciembre de 2019;98(49):e18284. Disponible en: <http://journals.lww.com/10.1097/MD.00000000000018284>
194. Jafari SH, Haseli S, Kaffashan S, Saeedi-Moghadam M, Iranpour P, Zeinali-Rafsanjani B. Assessment of the Hallmarks of Wilson Disease in CT Scan

Imaging. J Med Imaging Radiat Sci [Internet]. diciembre de 2019; Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1939865419305521>

195. Gawande A, Gupta GK, Gupta A, Wanjari SJ, Goel V, Rathore V, et al. Acute-on-Chronic Liver Failure: Etiology of Chronic and Acute Precipitating Factors and Their Effect on Mortality. J Clin Exp Hepatol [Internet]. noviembre de 2019;9(6):699-703. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0973688319301240>
196. Pinillos-Patiño Y, Herazo-Beltrán Y, Cataño JG, Ávila JR De. Actividad física y calidad de vida en personas con enfermedad renal crónica. Rev Med Chil [Internet]. 2019;147:153-60. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872019000200153

