

# Choroba Wilsona – czynniki wpływające na obraz kliniczny

## *Wilson disease – factors affecting clinical presentation*

Tomasz Litwin<sup>1</sup>, Anna Członkowska<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>II Klinika Neurologii, Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

<sup>2</sup>Zakład Farmakologii Klinicznej i Doświadczalnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Neurologia i Neurochirurgia Polska 2013; 47, 2: 161-169

DOI: 10.5114/ninp.2013.34397

### Streszczenie

Choroba Wilsona (ChW) jest chorobą genetyczną, spowodowaną zaburzeniami metabolizmu miedzi, z jej odkładaniem się w wielu tkankach i ich wtórnym uszkodzeniem. Przyczyną choroby jest mutacja w genie *ATP7B* na chromosomie 13 kodującym ATP-azę 7B biorącą udział w transporcie miedzi. Objawy neurologiczne pojawiają się zwykle pomiędzy 20. a 30. rokiem życia. Przebieg choroby jest zróżnicowany pod względem wieku wystąpienia objawów, objawów klinicznych i skuteczności leczenia. Obecnie znamy ponad 500 mutacji wywołujących ChW, ale same różnice w mutacjach *ATP7B* nie tłumaczą tak dużej zmienności obrazu. Ostatnio wskazuje się na czynniki modyfikujące przebieg ChW, takie jak polimorfizmy w genach: apolipoproteiny E, białka prionów, reduktazy metylenotetrahydrofolianowej, genu metabolizmu miedzi *Murr1*, antyoksydantu 1, sprzężonego z chromosomem X inhibitora apoptozy, a także zaburzenia metabolizmu żelaza, wpływ płci, procesy zapalne i stres oksydacyjny. Wyjaśnienie roli tych czynników może spowodować zmianę strategii leczenia ChW, dlatego celem pracy był przegląd oraz ocena znaczenia klinicznego dotychczasowych badań nad czynnikami potencjalnie modyfikującymi przebieg kliniczny ChW.

**Słowa kluczowe:** choroba Wilsona, miedź, ceruloplazmina, marskość wątroby.

### Abstract

Wilson disease (WD) is a genetic disorder with copper metabolism disturbances leading to copper accumulation in many organs with their secondary damage. It is caused by mutation in the *ATP7B* gene on chromosome 13, which encodes ATP-ase 7B involved in copper transport. The age of neurologic symptom onset in WD is 20-30 years, but there is a wide spectrum of disease including: age at onset, clinical signs and treatment efficacy. More than 500 mutations of *ATP7B* have been described so far, but the WD genotype does not explain the disease variability. Several other factors are suspected to influence WD presentation, including polymorphisms in the genes encoding: apolipoprotein E, prion-related protein, methylenetetrahydrofolate reductase, *Murr1*, antioxidant-1, X-linked inhibitor of apoptosis as well as iron metabolism disturbances, gender impact, inflammatory reactions and oxidative stress. The explanation of their significance can change the therapy of WD. The aim of our study was to review and assess the clinical significance of the factors affecting WD presentation.

**Key words:** Wilson disease, copper, ceruloplasmin, liver cirrhosis.

Adres do korespondencji: Tomasz Litwin, Instytut Psychiatrii i Neurologii, II Klinika Neurologii, ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa, tel. +48 22 458 25 68, faks +48 22 842 40 23, e-mail: tomlit@medprakt.pl

Pracę otrzymano: 22.05.2012; przyjęto do druku: 17.07.2012

## Wstęp

Choroba Wilsona (ChW) to wielonarządowa choroba genetyczna dziedziczona autosomalnie recesywnie, występująca z częstością 1/30 000 urodzeń w większości populacji [częściej na Islandii i Wyspach Kanaryjskich (1/2600), Sardynii (1/7000) oraz w Chinach i Japonii (1/10 000)] [1,2]. Istotą schorzenia jest nieprawidłowy metabolizm miedzi z jej patologicznym odkładaniem się w wielu narządach i tkankach (głównie w wątrobie, mózgu, nerkach i rogówce) oraz ich wtórnym uszkodzeniem [1,2].

Po raz pierwszy została dokładnie opisana w studium 12 przypadków w 1912 r. przez Samuela Alexandra Kinniera Wilsona jako rzadka choroba rodzinna, występująca u ludzi młodych, charakteryzująca się ruchami mimowolnymi, sztywnością, zaburzeniami mowy i połykania oraz zaburzeniami psychicznymi, prowadzącymi w ciągu kilku lat do śmierci [3].

Etiologia, zaburzenia metabolizmu miedzi i podłoże genetyczne ChW zostały poznane wieloetapowo znacznie później [1,2]. Gen choroby znajduje się na chromosomie 13 (13q14), składa się z 21 eksonów i koduje ATP-azę typu P (ATP7B), która występuje przede wszystkim w wątrobie, nerkach i łożysku (również w obrębie mózgu – ale z mniejszą ekspresją) [4,5]. ATP-aza 7B to enzym przez błonowy zlokalizowany głównie w hepatocytach, gdzie pośredniczy w transporcie wewnątrzkomórkowym jonu miedzi, wbudowywaniu miedzi w apoceruloplazminę oraz w wydalaniu tego metalu do żółci. U osób z ChW powstaje nieprawidłowa ATP-aza 7B, której czynność jest zaburzona, dlatego miedź gromadzi się postępująco w hepatocytach, uszkadza je i w postaci wolnej (związana z albuminami) jest uwalniana do krwiobiegu, następnie uszkadza kolejne narządy i powoduje wystąpienie objawów klinicznych [1–5].

Istnieje olbrzymia różnorodność objawów klinicznych ChW (od postaci zupełnie bezobjawowych po dominujące klinicznie postaci wątrobowe, od bezobjawowego zwiększenia aktywności enzymów wątrobowych po piorunującą niewydolność wątroby i dominujące postaci neuropsychiatryczne z różnorodnym spektrum ruchów mimowolnych oraz objawów psychicznych) [1,2]. Objawy mogą się pojawić w każdym wieku, ale ich początek obserwuje się najczęściej pomiędzy 5. (postać wątrobową) a 35. rokiem życia (2., 3. dekada), aczkolwiek nawet u ok. 3% pacjentów objawy choroby mogą się pojawić w wieku późniejszym. Najmłodszy pacjent, u którego rozpoznano ChW, miał 2 lata (postać wątrobową ze zwiększoną aktywnością enzymów wątro-

bowych), natomiast najstarsi pacjenci zostali zdiagnozowani dopiero w 8. dekadzie życia [1,2,6,7]. Ze względu na etiologię schorzenia wszystkie osoby z ChW mają w różnym stopniu wyrażone objawy uszkodzenia wątroby (czasami bezobjawowe klinicznie), które zwykle średnio o 10 lat wyprzedzają wystąpienie objawów neuropsychiatrycznych [1,2,6,7].

Choroba Wilsona może być skutecznie leczona lekami chelatującymi (D-penicylamina, trientine), zmniejszającymi wchłanianie miedzi z przewodu pokarmowego (sole cynku), a w sytuacjach szczególnych za pomocą przeszczepienia wątroby [1,2]. Tu również istnieje zmienność fenotypowa choroby, ponieważ u niektórych pacjentów (zwykle z chorobą rozpoznaną później) objawy nie ustępują pomimo leczenia. Z uwagi na tak szerokie spektrum objawów klinicznych, różnice w wieku wystąpienia objawów ChW i różne rokowanie ciągle nie ma prostych odpowiedzi na pytanie o przyczyny tak dużej zmienności obrazu klinicznego oraz różnic w efektywności leczenia. Wydaje się realne, że znalezienie nowych czynników wpływających na przebieg choroby pozwoli zmodyfikować leczenie ChW i poprawi jego skuteczność. W artykule przedstawiono przegląd piśmiennictwa z ostatnich lat dotyczącego czynników, które mogą wpływać na obraz kliniczny, a co za tym idzie – potencjalnych celów terapii dodatkowej.

## Czynniki wpływające na fenotyp choroby Wilsona

### Genotyp – rodzaj mutacji

Za ChW odpowiada mutacja genu *ATP7B*, zlokalizowanego na chromosomie 13 (13q14.3-q21.1), składającym się z 21 eksonów [8]. Obecnie znamy ponad 500 mutacji ([www.medgen.med.ualberta.ca/database.html](http://www.medgen.med.ualberta.ca/database.html)), które mogą wywoływać ChW, co powoduje, że praktycznie nie ma testów komercyjnych pozwalających rutynowo wykluczyć wszystkie mutacje (możliwe jest sekwencjonowanie całego genu). Dodatkowo, co ułatwia nieco diagnostykę, istnieje duża zmienność w występowaniu poszczególnych mutacji na świecie. W Stanach Zjednoczonych i Europie Północnej (również w Polsce) najczęściej (do 72% w Polsce, 37–63% w Europie Północnej) opisuje się mutację punktową zmiany sensu c.3207C>A w eksonie 14 genu *ATP7B*, polegającą na zamianie cytozyny w adeninę, czego skutkiem jest obecność histydyny zamiast glutaminy w pozycji 1069 łańcucha białkowego ATP-azy 7B (His1069Gln) [8–11].

W innych populacjach bardzo często dominują zupełnie inne mutacje, np. w chińskiej i koreańskiej mutacja Arg778Leu (37,7%), a także Thr935Met (10%) [11], w Arabii Saudyjskiej – mutacja 4193delC (32%) w eksonie 21 oraz Ser744Pro w eksonie 8 (18%) [12], a na Wyspach Kanaryjskich Leu708Pro (50%) [1,2]. Ze względu na różnorodność obrazu klinicznego ChW ciągle poszukuje się związków pomiędzy rodzajami mutacji a przebiegiem klinicznym. Dostępne są dane wskazujące, że mutacja His1069Gln jest związana z późniejszym wystąpieniem objawów, lżejszym przebiegiem choroby i mniej nasilonymi objawami neurologicznymi [8–10]. Inny przebieg ChW u osób homozygotycznych His1069Gln może mieć związek z niepełnym uszkodzeniem funkcji ATP-azy 7B przy tym genotypie [8–11]. Z kolei inne doniesienia sugerują, że cięższe mutacje typu braku sensu oraz o charakterze przesunięcia ramki odczytu (delecje, insercje, duplikacje) powodują wcześniejsze wystąpienie objawów ChW i jej cięższy przebieg (w tym częstsze epizody ostrej niewydolności wątroby) [1,13]. Jednak ścisłe korelacje genotyp–fenotyp w ChW wymagają dalszych badań i sam genotyp *ATP7B* obecnie nie wyjaśnia przyczyn zmienności klinicznej ChW ani efektów jej leczenia. Badania genetyczne mają znaczenie przede wszystkim w diagnostyce wstępnej, aczkolwiek w przyszłości udoskonalona terapia genowa może być alternatywną metodą leczenia tej choroby [1,2].

## Apolipoproteina E

Apolipoproteina E (ApoE) to białko kodowane przez gen znajdujący się na chromosomie 19, występujące w trzech postaciach izomorficznych: apoE2, apoE3 i apoE4, kodowanych przez trzy różne układy alleli genu *APOE*:  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  i  $\epsilon 4$  [14]. Izoformy apoE nie są równoważne pod względem funkcji, a efekt ten dotyczy zarówno metabolizmu lipidów, jak i innych funkcji (procesy zapalne, zwyrodnieniowe, stres oksydacyjny) [14]. W medycynie szczególnie ważną rolę odgrywa izoforma apoE4, która jest zwykle niekorzystna, mniej efektywna w wielu procesach chorobowych, np. procesach zapalnych, aktywacji mikrogleju, astrocytów, mniej skutecznie chroni komórki przed stresem oksydacyjnym, jest też bardziej podatna na procesy proteolityczne (fragmenty apoE uszkodzają cytoskielet komórek) [14]. Niekorzystną rolę izoformy apoE4 wykazano w wielu chorobach zwyrodnieniowych układu nerwowego, urazach mózgu, chorobach naczyń i wielu innych jednostkach chorobowych. Odnosnie do ChW istnieją 4 doniesienia na temat roli allela  $\epsilon 4$  w kształtowaniu obrazu klinicznego,

przy czym efekt niekorzystny w przypadku tego allela obserwowano tylko w części prac i wyłącznie wśród homozygot His1069Gln, gdzie powodował wcześniejsze o 5 lat wystąpienie objawów choroby w porównaniu z genotypem *APOE*  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (20 vs 25 lat) oraz o 6 lat wyłącznie wśród pacjentek z ChW (23,6 vs 29,9 roku) [14–18]. Ze względu na stwierdzenie tego związku tylko w części prac i wyłącznie wśród homozygot His1069Gln znaczenie polimorfizmu *APOE* w ChW jest ograniczone. Prawdopodobnie polimorfizm *APOE* jest czynnikiem wpływającym na fenotyp ChW, ale na razie nie ma znaczenia dla możliwości leczenia tej choroby.

## Białko prionowe

Prawidłowe białko prionowe (*prion-related protein* – PrP) wykazuje dużą ekspresję w komórkach ośrodkowego układu nerwowego i zdecydowanie mniejszą w innych tkankach, a kodowane jest przez gen *PRNP* zlokalizowany na chromosomie 20 [19]. Dokładna rola tego białka nie została dotychczas poznana, natomiast jego patologiczna izoforma, tzw. PrP-Sc (*scrapie*), odgrywa rolę w etiologii pasażowalnych encefalopatii gąbczastych. Białko PrP-Sc ma również właściwości przyłączania jonów miedzi, stąd hipoteza, że uczestniczy w rozwoju ChW. Dotychczas przebadano znaczenie polimorfizmu *PRNP* w kodonie 129 (metionina lub walina), istotnego w etiologii wariantu choroby Creutzfeldta-Jakoba, i stwierdzono, że u pacjentów z ChW homozygotycznych wobec metioniny w kodonie 129 objawy pojawiają się o 9 lat później niż u pozostałych pacjentów (heterozygot dla metioniny czy homozygot dla waliny) [19]. Jest to dotąd jedyne doniesienie mogące tłumaczyć częściowo kliniczne różnice w przebiegu ChW, natomiast znaczenie praktyczne tego polimorfizmu jest obecnie ograniczone.

## Homocysteina

Niezależnie od etiologii (choroby wrodzone lub nabyte) udowodniono rolę hiperhomocysteinemii w chorobach sercowo-naczyniowych (etiologia miażdżycy oraz chorób zakrzepowo-zatorowych) [20–22]. Wykazano również, że może ona doprowadzać do uszkodzenia innych tkanek, np. hepatocytów oraz neuronów, prawdopodobnie w wyniku nasilenia stresu oksydacyjnego w komórkach. Zwiększone stężenie homocysteiny jest stwierdzane w marskości wątroby, zwłaszcza poalkoholowej, i koreluje ze stopniem niewydolności wątroby wg skali Childa-Pugha oraz ze stężeniami bilirubiny [20].

Także w przypadku stłuszczenia, zwłóknienia wątroby czy też niealkoholowego stłuszczenia wątroby (*non-alcoholic fatty liver disease* – NAFLD) stwierdza się korelację uszkodzenia ze zwiększonym stężeniem homocysteiny [21]. Obecnie obserwacje te są interpretowane zarówno jako wtórny efekt uszkodzenia wątroby, która bierze udział w metabolizmie prekursora homocysteiny, tzn. metioniny (85% jej przemian zachodzi w wątrobie), oraz niedoborów witamin (kwas foliowy i witaminy z grupy B) w przebiegu marskości, jak i punkt wyjścia uszkodzenia wątroby [22,23]. Jest to związane z tym, że w przebiegu hiperhomocysteinemii dochodzi do nasilenia zwłóknienia wątroby poprzez indukcję ekspresji genów prokolagenu typu I oraz tkankowego inhibitora metaloproteiny 1 [21,22]. Hiperhomocysteinemia, niezależnie od tego, czy występuje pierwotnie czy wtórnie w uszkodzeniu, nasila procesy zwłóknienia wątroby oraz jej uszkodzenia [22,23]. Biorąc pod uwagę metabolizm homocysteiny i obserwacje o jej zwiększonym stężeniu w chorobach wątroby, powyższe doniesienia stały się punktem wyjścia prób stosowania związków poprawiających metabolizm homocysteiny, takich jak betaina (trimetylglicyna), oraz witamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> i kwasu foliowego przy uszkodzeniu wątroby. W ChW występuje uszkodzenie zarówno wątroby, jak i neuronów, dlatego można by się spodziewać również zaburzeń metabolizmu homocysteiny. Dotychczas przeprowadzono tylko jedno, ale bardzo obiecujące badanie dotyczące wpływu polimorfizmu genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*) biorącej udział w przemianach homocysteiny u pacjentów z ChW i stwierdzono, że zmiany aktywności enzymu związane z ich genetycznymi polimorfizmami wpływają na stężenie homocysteiny oraz na obraz kliniczny choroby [24]. Polimorfizmy rs1801133 (C677T) i rs101131 (A1298C) genu *MTHFR* odpowiadają za zmniejszoną aktywność tego enzymu (nosiściele allele C677T i allele 1298C), a co za tym idzie – za hiperhomocysteinemię (toksyyczną dla neuronów i hepatocytów). Prawdopodobnie mechanizmy te odgrywają rolę w obrazie ChW. Gromadzka i wsp. [24] wykazali, że polimorfizm genu *MTHFR* może odpowiadać za wcześniejsze wystąpienie objawów ChW – u nosicieli allele 1298C objawy pojawiają się o 4 lata wcześniej niż u osób pozbawionych tego allele (24,9 roku vs 28,5 roku). Obserwacje te wymagają dalszych badań z oceną gospodarki homocysteiną, ale mogą być również bardzo istotne dla leczenia wspomagającego ChW poprzez modyfikację terapii (kwas foliowy, witaminy B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, betaína) lub dietę z ograniczeniem aminokwasów zawierających siarkę.

## Murr1

W transport miedzi w obrębie hepatocytów zaangażowanych jest wiele transporterów, które obecnie bada się również pod kątem wpływu na ChW. Jeden z nich to białko Murr1, biorące udział w wydalaniu miedzi z hepatocytu do żółci i wpływające bezpośrednio na ATP-azę [25]. W przypadku zmniejszenia ekspresji tego białka dochodzi do zwiększonej akumulacji wewnątrzkomórkowej miedzi [25,26]. Delecja w eksonie 2 genu *Murr1* na chromosomie 10q26 wywołuje zatrucie miedzią u psów rasy Bedlington terrier, w postaci dziedzicznej autosomalnie recesywnie choroby przebiegającej z uszkodzeniem wątroby, przewlekłym zapaleniem i marskością, wtórnymi do nadmiaru miedzi związanego z zaburzonym usuwaniem miedzi do żółci [25]. Dotychczas nie opisywano nieprawidłowości neurologicznych ani wahań stężenia ceruloplazminy u opisywanych zwierząt. U ludzi homologiczny gen zidentyfikowano na chromosomie 2p13-16, czyli innym niż lokalizacja genu ChW, natomiast ze względu na jego udział w transporcie miedzi przeprowadzono szereg badań dotyczących polimorfizmów genu oraz ewentualnych mutacji mogących mieć udział w etiologii ChW. Nie stwierdzono, aby mutacje w obrębie genu *Murr1* miały znaczenie w etiopatogenezie ChW, jakkolwiek w odniesieniu do polimorfizmu w kodonie Asn 164 wykazano, że u heterozygot GAT/GAC objawy występowały wcześniej w porównaniu z homozygotami GAT/GAT [26]. Badania te przeprowadzono w małych grupach pacjentów, dlatego wymagają weryfikacji, natomiast na pewno przybliżają patofizjologię transportu miedzi w obrębie hepatocytów i mogą mieć znaczenie w przyszłości w terapii genowej.

Rola genu *Murr1* w porównaniu z *ATP7B* wydaje się jednak znacznie mniej istotna w ChW u ludzi niż w wypadku genetycznych zaburzeń metabolizmu miedzi u zwierząt.

## Atox-1

Miedź po wchłonięciu z przewodu pokarmowego jest transportowana żyłą wrotną do wątroby – głównego organu biorącego udział w regulacji homeostazy gospodarki tym pierwiastkiem. Z krwi dostaje się do hepatocytów przy udziale transportera miedzi 1 (*copper transporter 1* – CTR1) umieszczonego na hepatocytach. Z kolei w cytoplazmie w metabolizm i transport miedzi zaangażowane są glutation, metalotioneiny oraz Atox-1 (*antioxidant-1*).

Atox-1 bierze udział w transporcie, dostarcza miedź do ATP-azy 7B poprzez bezpośrednie interakcje między białkami. Poprzez regulację obciążenia ATP-azy 7B jonami miedzi Atox-1 oraz jego gen stały się kolejnymi potencjalnymi czynnikami wpływającymi na obraz ChW. Badania Simon i wsp. [27] w populacji 63 pacjentów z ChW nie wykazały jednak istotnej roli zarówno mutacji, jak i polimorfizmu w obrębie genu *Atox-1* w tej chorobie [27].

### Inhibitor apoptozy

Dotychczas uważano, że uszkodzenie komórek (hepatocytów lub neuronów) wiąże się z bezpośrednim toksycznym działaniem wolnej miedzi, jednak w ostatnich latach pogląd ten się zmienia i bierze się pod uwagę stres oksydacyjny oraz czynniki zapalne i wpływające na apoptozę. Czynnikiem wpływającym na obumieranie komórek, a potencjalnie biorącym udział w etiologii ChW jest sprzężony z chromosomem X inhibitor apoptozy (*X-linked inhibitor of apoptosis* – XIAP). Ma to związek z obserwacją, że w wypadku nadmiernego obciążenia organizmu miedzią dochodzi do zmniejszenia syntezy tego białka, co prowadzi do nasilenia apoptozy inicjowanej poprzez kaspazę 3 i obumierania komórek [28]. Na podstawie tych doniesień Weiss i wsp. przeprowadzili analizę genu *BIRC4/XIAP* u 98 osób z ChW i nie stwierdzili istotnych różnic związanych z polimorfizmami w obrębie badanego genu oraz obrazem klinicznym. Ciekawą, wymagającą dalszych badań obserwacją było występowanie bardzo rzadkiego polimorfizmu c.1408A>T;p.T470S w eksonie 7 tylko u jednej pacjentki z bardzo wczesnym (w wieku 5 lat) początkiem objawów [29]. Nie można obecnie stwierdzić, czy jest to zbieżność, czy istotny czynnik wpływający na ChW. Wydaje się zatem, że XIAP nie jest czynnikiem o bardzo dużym znaczeniu w ChW, natomiast być może wpływa on na przebieg kliniczny tej choroby. Konieczne są dalsze badania na znacznie większych grupach pacjentów w celu oceny tego efektu.

### Metabolizm żelaza

Stężenie żelaza związanego z ferrytyną w mózgu fizjologicznie zwiększa się z wiekiem oraz w przebiegu chorób zwyrodnieniowych układu nerwowego (choroba Parkinsona, otępienie z ciałami Lewy'ego), przy czym obserwuje się tutaj różnice związane z płcią (u mężczyzn stężenia żelaza są większe i zwykle częściej zapadają oni na choroby zwyrodnieniowe układu nerwowego). Dla-

tego wysunięto hipotezę, że żelazo odkładane w mózgu jest czynnikiem ryzyka wystąpienia chorób zwyrodnieniowych, zarówno poprzez nasilenie stresu oksydacyjnego, produkcję wolnych rodników, jak i interakcje z amyloidem  $\beta$  oraz innymi białkami biorącymi udział w patogenezie chorób zwyrodnieniowych. W schorzeniach wątroby, takich jak NAFLD oraz zwłóknienie wątroby w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby typu B, wykazano również, że większe stężenie żelaza jest czynnikiem złego rokowania [30,31].

W ChW istnieje teoretyczne uzasadnienie zaburzeń metabolizmu żelaza. U pacjentów z ChW stężenie ceruloplazminy, białka transportującego miedź, jest zwykle zmniejszone. Ceruloplazmina bierze także udział w transporcie żelaza, dlatego zaburzenia funkcji ceruloplazminy powinny skutkować zaburzeniami metabolizmu tego pierwiastka. Dotychczas przeprowadzono kilka obserwacji osób z ChW pod kątem zaburzeń metabolizmu żelaza. Hayashi i wsp. [32] zbadali m.in. 4 pacjentów z ChW (przed leczeniem chelatującym i po nim), u których wyjściowo stwierdzano zmniejszone stężenie ceruloplazminy, zwiększoną zawartość miedzi w biopsjach wątroby oraz żelaza u dwóch pacjentów, a także duże stężenie ferrytyny w surowicy u dwóch chorych. Po standardowym leczeniu chelatującym – d-penicylamina (2 pacjentów) lub trientina (2 pacjentów) – trwającym 3–9 lat – okazało się, że u wszystkich pacjentów zawartość miedzi w wątrobie była mała, natomiast zawartość żelaza się zwiększyła (niezależnie od leku chelatującego). Autorzy wysunęli hipotezę, że u osób z ChW występuje zespół przeładowania żelazem. Zaproponowali oni wnikliwą analizę metabolizmu żelaza (szczególnie biopsji wątroby) u wszystkich pacjentów z ChW, a w razie stwierdzenia jego zaburzeń dietę z ograniczeniem żelaza oraz flebotomię, aby zmniejszać ryzyko dalszego uszkodzenia wątroby przez żelazo [32]. Podobne obserwacje poczynili również Shiono i wsp. [33] oraz Medici i wsp. [34]. Na podstawie tych doniesień Pfeifferberger i wsp. [35] przeanalizowali 143 pacjentów z ChW pod kątem metabolizmu żelaza i genu hemochromatozy i nie znaleźli istotnych odchyśleń poza zwiększonym stężeniem ferrytyny u mężczyzn ze znacznie zmniejszonym stężeniem ceruloplazminy [35]. Biorąc pod uwagę negatywny wpływ zwiększonego stężenia żelaza na postępowanie choroby wątroby i zwyrodnienie układu nerwowego, można by tym tłumaczyć częstsze występowanie choroby oraz objawów neurologicznych u mężczyzn. Należałoby zweryfikować ten wpływ na podstawie analizy metabolizmu żelaza w mózgu, jednakże oprócz kazuistycznego doniesienia Bruehleimera i wsp.

[36], w którym wykazano zwiększony wychwyt żelaza przez neurony w ChW w badaniu za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej, nie ma takich prac. Wykazanie znaczenia przeładowania żelazem w etiologii ChW może mieć duże znaczenie w terapii tego schorzenia, gdyż potwierdzenie tego rodzaju zaburzeń wpłynęłoby zapewne na modyfikację leczenia, np. zastosowanie chelatacji żelaza (być może deferoksamina).

## Płeć

Wpływ płci na obraz kliniczny jest dobrze udowodniony zarówno w wielu chorobach zwyrodnieniowych mózgu (choroba Parkinsona, Alzheimer, otępienie z ciałami Lewy'ego), jak i w przebiegu chorób wątroby (stłuszczenie wątroby, zwłóknienie wątroby w przebiegu przewlekłego zapalenia) [37]. Dlatego w przebiegu ChW, w której dochodzi zarówno do uszkodzenia wątroby, jak i zwyrodnienia mózgu, takie różnice także powinny być obserwowane. Pierwsze doniesienia wykazujące, że ostra niewydolność wątroby w przebiegu ChW występuje częściej u kobiet niż u mężczyzn, pojawiły się na początku XXI w. [1,2], natomiast analizę większej grupy pacjentów (510 osób z objawami ChW) pod kątem różnic związanych z płcią przeprowadzili dopiero Litwin i wsp. [37]. Stwierdzili oni, że u kobiet częściej rozwijają się objawy wątrobowe ChW, natomiast u mężczyzn – objawy neuropsychiatryczne (zwłaszcza objawy drżawkowe, sztywnościowo-drżawkowe i psychiczne). Ponadto objawy neuropsychiatryczne u kobiet występują średnio 2 lata później niż u mężczyzn (29,4 roku vs 27,1 roku). Obserwacje dotyczące różnic w przebiegu ChW są spójne z danymi o innej chorobie zwyrodnieniowej, tzn. chorobie Parkinsona, w której również obserwuje się związane z płcią różnice odnośnie do wieku zachorowania, podatności na leczenie lewodopą oraz objawów klinicznych [37]. Różnice w przebiegu ChW w zależności od płci próbuje się tłumaczyć przede wszystkim dwoma mechanizmami: wpływem estrogenów i różnicami w metabolizmie żelaza. U kobiet rolę ochronną przypisuje się estrogenom w mózgu, przede wszystkim poprzez wpływ na przekąźnictwo dopaminergiczne (działanie neurotroficzne dla neuronów dopaminergicznych), neuroprotekcyjne, antyoksydacyjne, poprawiające funkcjonowanie łańcucha oddechowego (mniejsze uszkodzenie mitochondriów) oraz poprzez regulację syntezy i wychwytu dopaminy [co potwierdzają obserwacje wskazujące na zmianę gęstości receptorów dopaminergicznych w czasie cyklu menstruacyjnego, zmniejszenie stężenia dopaminy o 36% po usunięciu jajników

oraz badania kliniczne z estrogenami w chorobie Parkinsona (*Parkinson's Disease on Estrogen Therapy Replacement in the Menopause Years*)]. Z kolei w wątrobie estrogeny mogą działać ochronnie w przebiegu ChW poprzez wpływ na syntezę wielu protein (m.in. ceruloplazminy, lipoprotein, globulin transportujących hormony) [37]. Drugim mechanizmem mogącym wpływać na różnice w przebiegu ChW w zależności od płci mogą być różnice w metabolizmie żelaza (omówione wcześniej). Podsumowując – płeć ma wpływ na obraz kliniczny oraz przebieg ChW. Być może oddziaływanie na czynniki wywołujące te różnice (estrogeny) czy leki chelatujące żelazo (deferoksamina) będą w przyszłości brane pod uwagę w terapii wspomagającej leczenie ChW.

## Czynniki zapalne

Ze względu na defekt genetyczny w ChW miedź odkłada się początkowo w wątrobie, powodując uszkodzenie hepatocytów oraz zapalenie wątroby (czasami bezobjawowe klinicznie), diagnozowane często jako nieswoiste (rozstrzygająca jest tu ocena zawartości miedzi w biopsji, metabolizm miedzi i badania genetyczne). Kolejno w przebiegu choroby dochodzi do odkładania się miedzi w wielu innych narządach i tkankach oraz jej toksycznego wpływu na komórki, czego logicznym następstwem jest obrzęk cytotoksyczny, glejoza w mózgu i nasilenie stanu zapalnego w wątrobie [38]. Pojawiły się hipotezy, zgodnie z którymi nadmierna aktywność niektórych czynników prozapalnych może wpływać na manifestację kliniczną ChW. Hipotezę tę potwierdziły obserwacje Bruhi i wsp. [39], którzy wykazali, że u pacjentów z ChW dochodzi do zwiększenia stężenia cytokin prozapalnych, tj. interleukiny 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) oraz IL-6, a zarazem do zmniejszenia stężenia IL-10, hamującej syntezę innych interleukin, czyli tzw. interleukiny przeciwzapalnej. Nie wykazano jednak związku między postaciami dominującymi klinicznie a stężeniami interleukin. Nie stwierdzono również wpływu innych cytokin, takich jak IL-2 lub TNF- $\alpha$ . Znaczenie czynników zapalnych w przebiegu ChW potwierdziły też badania dotyczące antagonisty receptora dla IL-1 (IL-1RN), cytokiny działającej przeciwzapalnie antagonistycznie do IL-1. Wykazano, że homozygotyczność dla allele IL-1RN\*2 wiąże się z bardziej przedłużoną i cięższą reakcją zapalną, zmniejszeniem syntezy białka IL-1RA, brakiem możliwości zahamowania aktywności IL-1 $\beta$  i reakcji zapalnej modulowanej przez IL-1 $\beta$ , a w ChW nosicielstwo allele IL-1RN\*2 wiąże się z wcześniejszym wystąpieniem objawów klinicznych u chorych z objawami neuropsychia-

trycznymi (27,5 roku vs 32 lata) [38]. Dotychczasowe dane dotyczące procesu zapalnego w ChW sugerują jego znaczenie dla wystąpienia objawów choroby i jej przebiegu, ale wpływ ten ciągle jest niejasny. Proces zapalny wydaje się wtórny do odkładania się miedzi w tkankach, jakkolwiek w przyszłości może być również celem leczenia wspomagającego ChW. Nie prowadzi się obecnie badań nad efektem leków modyfikujących proces zapalny w ChW.

### Stres oksydacyjny

Biorąc pod uwagę toksyczne działanie miedzi odkładającej się w wielu tkankach w przebiegu ChW oraz analizując mechanizm komórkowy uszkodzeń w etiopatogenezie ChW, wysunięto teorię o znaczeniu stresu oksydacyjnego w uszkodzeniu mitochondriów hepatocytów przeładowanych miedzią (uszkodzenie łańcucha oddechowego), zwiększonym tworzeniu wolnych rodników (w przebiegu zmian stanu utleniania  $\text{Cu}^{2+}$ ) i zwiększonym utlenianiu lipidów błon komórkowych. Hipotezy te wstępnie potwierdzała obserwacja zmniejszonego stężenia antyoksydantów ( $\alpha$ -tokoferolu) u pacjentów z ChW [39,40]. Wpływ stresu oksydacyjnego potwierdzono również w modelach zwierzęcych, gdzie w wypadku zmniejszenia stężenia  $\alpha$ -tokoferolu obserwowano nasilenie uszkodzenia mitochondriów hepatocytów przez wolną miedź (przy przeładowaniu tym jonem) [41]. W przypadku suplementacji  $\alpha$ -tokoferolem zwierząt przeładowanych miedzią okazywało się, że antyoksydant zmniejszał toksyczne działanie miedzi na narządy (w tym uszkodzenie wątroby) [41]. Obserwacje te stały się punktem wyjścia prób stosowania  $\alpha$ -tokoferolu w leczeniu ChW, natomiast nie zostały dotąd poparte badaniami klinicznymi z udziałem pacjentów.

Biorąc pod uwagę rolę, jaką stres oksydacyjny odgrywa w etiopatogenezie ChW, zaczęto szukać czynników związanych z podatnością na stres, które mogą wpływać na obraz kliniczny ChW. Dotychczas przeprowadzono na ten temat jedno, ale interesujące badanie. Bruha i wsp. [39] ocenili zdolności antyoksydacyjne surowicy u pacjentów z ChW i stwierdzili, że są one istotnie zmniejszone. Odnotowali również dodatnią korelację pomiędzy stopniem zmniejszenia zdolności antyoksydacyjnych a ciężkością choroby w *Wilson's Disease Rating Score Scale*. Obecnie wydaje się, że znaczenie stresu oksydacyjnego należy rozpatrywać razem z zaburzeniami metabolizmu żelaza (opisanymi powyżej), które prawdopodobnie również wpływają na przebieg ChW [39]. Dane o zmniejszonych zdolnościach antyoksydacyjnych pacjentów

z ChW, ich znaczeniu dla ciężkości objawów neurologicznych, zmniejszonych stężeniach antyutleniaczy (witamina E) u osób z ChW mogą się stać punktem wyjścia dla nowej terapii z użyciem antyoksydantów jako leczenia wspomagającego.

### Podsumowanie

Coraz lepiej poznajemy mechanizmy, które mogą wpływać na przebieg i obraz kliniczny ChW, niestety nadal nie jesteśmy w stanie wyjaśnić istniejących różnic w obrazie klinicznym choroby oraz w efektywności leczenia [42]. W pracy przedstawiono i omówiono analizowane dotychczas czynniki, które mogą wpływać na ChW, przy czym w wypadku kilku może to mieć istotne implikacje kliniczne w odniesieniu do leczenia.

Wydaje się, że najciekawsze dane wymagające dalszych badań, a mogące zmienić praktykę kliniczną, dotyczą: stresu oksydacyjnego, metabolizmu żelaza i metabolizmu homocysteiny u pacjentów z ChW. W wypadku stresu oksydacyjnego dane o zmniejszonej zdolności antyoksydacyjnej i zmniejszonym stężeniu  $\alpha$ -tokoferolu u osób z ChW mogą stanowić podstawę prób klinicznych z lekami poprawiającymi czynność łańcucha oddechowego (koenzym Q) czy też stosowania wymiataczy wolnych rodników ( $\alpha$ -tokoferol). Z kolei zaburzenia metabolizmu żelaza w ChW w postaci odkładania żelaza w wątrobie w przebiegu leczenia chelatującego mogą, w wypadku potwierdzenia tych obserwacji w dużych grupach, zmienić dotychczasowy sposób terapii (skrócenie czasu leczenia lekami chelatującymi na korzyść soli cynku?, zastosowanie leków chelatujących żelazo?). Również samo odkładanie się żelaza w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu ChW może być podstawą podjęcia próby dodatkowego leczenia preparatami chelatującymi żelazo. I wreszcie zaburzenia metabolizmu homocysteiny i udowodnienie jej roli w ChW może się przyczynić do zastosowania leczenia wspomagającego tej choroby preparatami witamin  $\text{B}_{12}$ ,  $\text{B}_6$  oraz betainą. Wszystkie te badania są bardzo obiecujące, ale wymagają potwierdzenia w większych grupach chorych, a następnie badań klinicznych oceniających skuteczność i bezpieczeństwo nowych metod leczenia. Ze względu na rzadkie występowanie choroby i jej bardzo zmienny naturalny przebieg może to być jednak niezwykle trudne.

### Oświadczenie

Autorzy zgłaszają brak konfliktu interesów.

## Piśmiennictwo

1. Pfeiffer R. Wilson's disease. *Semin Neurol* 2007; 27: 123-132.
2. Roberts E., Schilsky M. Diagnosis and treatment of Wilson's disease: an update. *Hepatology* 2008; 47: 2089-2111.
3. Wilson S.A. Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain* 1912; 34: 295-509.
4. Frydman M. Genetics aspects of Wilson's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1990; 5: 483-490.
5. Bull P.C., Thomas G.R., Rommens J.M. i wsp. The Wilson disease gene is a putative copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993; 5: 327-337.
6. Ferenci P., Czlonkowska A., Merle U. i wsp. Late-onset Wilson's disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 1294-1298.
7. Ala A., Borjigin J., Rochwarger A. i wsp. Wilson disease in septuagenarian siblings: raising the bar for diagnosis. *Hepatology* 2005; 41: 668-670.
8. Stapelbroek J.M., Bollen C.W., van Amstel J.K. i wsp. The H1069Q mutation in ATP7B is associated with late and neurologic presentation in Wilson's disease: results of meta-analysis. *J Hepatol* 2004; 41: 758-763.
9. Gromadzka G., Schmidt H., Genschel J. i wsp. The p.H1069Q mutation in ATP7B and biochemical parameters of copper metabolism and clinical manifestation of Wilson's disease. *Mov Disord* 2005; 20: 1-4.
10. Gromadzka G., Schmidt H., Genschel J. i wsp. Frameshift and nonsense mutations in the gene for ATPase7B are associated with severe impairment of copper metabolism and with an early clinical manifestation of Wilson's disease. *Clin Gen* 2005; 68: 524-532.
11. Gu Y.H., Kodama H., Du S.L. i wsp. Mutation spectrum and polymorphisms in ATP7B identified on direct sequencing of all exons in Chinese Han and Hui ethnic patients with Wilson's disease. *Clin Gen* 2003; 64: 479-484.
12. Al Jumah M., Majumdar M., Al Rajeh S. i wsp. A clinical and genetic study of 56 Saudi Wilson disease patients: identification of Saudi-specific mutations. *Eur J Neurol* 2004; 11: 121-124.
13. Okada T., Shiono Y., Kaneko Y. i wsp. High prevalence of fulminant hepatic failure among patients with mutant alleles for truncation of ATP7B in Wilson's disease. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1232-1237.
14. Schiefermeier M., Kolleger H., Madl C. i wsp. The impact of apolipoprotein E genotypes on age at onset of symptoms and phenotypic expression in Wilson's disease. *Brain* 2000; 123: 585-590.
15. Wang X.P., Wang X.H., Bo Y.C. i wsp. Apolipoprotein E genotypes in Chinese patients with Wilson's disease. *Q J Med* 2003; 96: 541-544.
16. Kocabay G., Tutuncu Y., Yilmaz H. i wsp. Impact of apolipoprotein E genotypes on phenotypic expression in Turkish patients with Wilson's disease. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 1270-1271.
17. Gu Y.H., Kodama H., Du S.L. Apolipoprotein E genotype analysis in Chinese Han ethnic children with Wilson's disease, with a concentration on those homozygous for R778L. *Brain Dev* 2005; 27: 551-553.
18. Litwin T., Gromadzka G., Czlonkowska A. Apolipoprotein E gene (APOE) genotype in Wilson's disease: impact on clinical presentation. *Parkinsonism Relat Disord* 2012; 18: 367-369.
19. Merle U., Stremmel W., Gesner R. Influence of homozygosity for methionine at codon 129 of the human prion gene on the onset of neurological and hepatic symptoms in Wilson's disease. *Arch Neurol* 2006; 63: 982-985.
20. Ferre N., Gomez F., Camps J. i wsp. Plasma homocysteine concentrations in patients with liver cirrhosis. *Clin Chem* 2002; 48: 183-185.
21. Remkova A., Remko M. Homocysteine and endothelial markers are increased in patients with chronic liver diseases. *Eur J Intern Med* 2009; 20: 482-486.
22. Garcia-Tevijano E.R., Berasain C., Rodriguez J.A. i wsp. Hyperhomocysteinemia in liver cirrhosis mechanisms and role in vascular and hepatic fibrosis. *Hypertension* 2001; 38: 1217-1221.
23. Gulsen M., Yesilova Z., Bagci S. i wsp. Elevated plasma homocysteine concentrations as a predictor of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1448-1455.
24. Gromadzka G., Rudnicka M., Chabik G. i wsp. Genetic variability in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) affects clinical expression of Wilson's Disease. *J Hepatol* 2011; 55: 913-919.
25. Burstein E., Hoberg J.E., Wilkinson A.S. i wsp. COMMD proteins, novel family of structural and functional homologues of MURR1. *J Biol Chem* 2005; 280: 22222-22232.
26. Weiss K.H., Merle U., Schaefer M. i wsp. Copper toxicosis gene MURR1 is not changed in Wilson disease patients with normal blood ceruloplasmin levels. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2239-2242.
27. Simon I., Schaefer M., Reichert J. i wsp. Analysis of the human Atox 1 homologue in Wilson patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2383-2387.
28. Mufti A.R., Burstein E., Csomos R.A. i wsp. XIAP is a copper binding protein deregulated in Wilson's disease and other copper toxicosis disorders. *Mol Cell* 2006; 21: 775-785.
29. Weiss K.H., Runz H., Noe B. i wsp. Genetic analysis of BIRC4/XIAP as a putative modifier gene of Wilson disease. *J Inherit Met Dis* 2010, doi:10.1007/s10545-010-9123-5.
30. Rigamonti C., Andorno S., Maduli E. i wsp. Gender and liver fibrosis in chronic hepatitis: the role of iron status. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1445-1451.
31. Schwimmer J., McGreal N., Deutsch R. i wsp. Influence of gender, race and ethnicity on suspected fatty liver obese adolescents. *Pediatrics* 2005; 115: 561-565.
32. Hayashi H., Motoyoshi Y., Yoshikazu F. i wsp. Compound overload of copper and iron in patients with Wilson's disease. *Med Mol Morphol* 2006; 39: 121-126.
33. Shiono Y., Wakusawa S., Hayashi H. i wsp. Iron accumulation in the liver of male patients with Wilson's disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 11: 3147-3151.
34. Medici V., di Leo V., Lamboglia F. i wsp. Effect of penicillamine and zinc on iron metabolism in Wilson's disease. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 1495-1500.



35. Pfeiffenberger J., Gotthardt D.N., Herrmann T. i wsp. Iron metabolism and the role of HFE gene polymorphisms in Wilson's disease. *Liver Int* 2012; 32: 165-170.
36. Bruehleimer M., Leenders K.L., Vontobel P. i wsp. Increased cerebral iron uptake in Wilson's disease: A 52 Fe-citrate PET study. *J Nucl Med* 2000; 41: 781-787.
37. Litwin T., Gromadzka G., Czlonkowska A. Gender differences in Wilson's disease. *J Neurol Sci* 2012; 312: 31-35.
38. Gromadzka G., Czlonkowska A. Influence of IL-1RN intron 2 variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism on the age at onset of neuropsychiatric symptoms in Wilson's disease. *Int J Neurosci* 2011; 121: 8-15.
39. Bruha R., Vitek L., Marecek Z. i wsp. Decreased serum antioxidant capacity in patients with Wilson disease is associated with neurological symptoms. *J Inherit Metab Dis* 2012; 35: 541-548.
40. Rodo M., Czlonkowska A., Pulawska M. i wsp. The level of serum lipids, vitamin E and low density lipoprotein oxidation in Wilson's disease patients. *Eur J Neurol* 2000; 7: 491-494.
41. Sokol R.J., McKim J.M. Jr, Deveraux M.W. Alpha-tocopherol ameliorates oxidant injury in isolated copper-overloaded rat hepatocytes. *Pediatr Res* 1996; 39: 259-263.
42. Czlonkowska A., Tarnacka B., Litwin T. i wsp. Wilson's disease – cause of mortality in 164 patients during 1992-2003 observation period. *J Neurol* 2005; 252: 698-703.