

DEGENERAÇÃO HEPATOLENTICULAR

A PROPÓSITO DE 102 CASOS

HORACIO M. CANELAS *

No histórico da caracterização nosológica da degeneração hepatolenticular (DHL) sobressaem os nomes de Westphal¹⁰³, Strümpell^{85,86}, Fleischer^{31,32,33}, Wilson¹⁰⁴ e Hall⁴³. No campo bioquímico destacam-se as pesquisas de Haurowitz⁴⁴, Lüthy⁵¹, Uzman e Denny-Brown⁹¹, Cumings²², Holmberg e Laurell⁴⁵, Scheinberg e Gitlin⁷⁵, Bearn e Kunkel⁷. Finalmente, cumpre mencionar Walshe^{97,98}, que introduziu um novo quelante no arsenal terapêutico, a penicilamina, cujos efeitos vieram desensombrar o prognóstico da moléstia.

Em nossa Clínica, a partir de 1946, foram estudados 102 pacientes com moléstia de Wilson. O diagnóstico baseou-se na comprovação de baixas concentrações de ceruloplasmina e cobre séricos, de elevados índices de cuprúria, de quadro clínico compatível. Quanto ao sexo, 57 pertenciam ao masculino (55,9%). Em relação à raça, 79 eram brancos (77,5%), 18 pardos (17,6%), 4 pretos (3,9%) e 1 amarelo (1,0%). Confrontando-se essas cifras com a frequência geral em nosso hospital, verifica-se que é apenas aparente qualquer diferença de incidência em relação ao sexo e à raça.

QUADRO CLÍNICO

Após acirradas polêmicas travadas no início do século entre a escola de Westphal, Strümpell e Alzheimer e os seguidores das idéias de Wilson, tornou-se evidente, com a revisão da literatura feita em 1921 por Hall⁴³ que, não obstante a unidade nosográfica, a DHL apresenta duas variantes clínicas: a juvenil (forma de Wilson), em que as manifestações clínicas surgem entre os 7 e 16 anos, e a do adulto (pseudosclerose de Westphal-Strümpell), com início dos 17 aos 35 anos. Na primeira predominam a rigidez e as posturas anormais, e na segunda, o tremor e a disartria. Além dessas duas formas clínicas polares, podem ocorrer variantes com predomínio da distonia de torção, de movimentos coreatéticos, de mioclonias ou mesmo de hemibalismos.

Em relação à época de início da sintomatologia há na literatura registros de casos de instalação muito precoce, aos 4 (François e col.³⁵) ou 13 meses (Lüthy⁵¹); Scheinberg e Sternlieb⁷⁸ observaram uma paciente que, aos 6 anos, começou a apresentar crises de grande mal; mas sinais extrapiramidais característicos só surgiram aos 11 anos. Outros casos têm começo tardio, após os 40 anos (Martin⁵⁴). Em nossos casos, a idade na instalação da sintomatologia variou entre 6 (forma hepática) e 9 (forma neurológica) e 49 anos. Houve nítida correlação com a forma clínica da moléstia, sendo significantes as diferenças entre as formas pseudosclerose e hepática e entre as formas de Westphal-Strümpell e de Wilson.

Trabalho do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: * Professor Titular.

A lesão hepática, não obstante seu vulto, costuma ser assintomática. Contudo, em alguns casos, a doença se inicia por episódios de icterícia ou de outros sinais de disfunção hepática. Raramente as manifestações da hepatopatia predominam ou são exclusivas; nestes casos configura-se a "forma frusta" de Bramwell¹⁵, ou "Wilson abdominal" de Kehrer⁴⁷, ou ainda a forma portal de van Bogaert e Willocx¹¹, a qual costuma caracterizar os estádios mais precoces da doença.

Nos pacientes não tratados adequadamente, a evolução da enfermidade é extremamente variável, porém a média é de 4 a 5 anos. A forma de Wilson apresenta curso mais rápido e é mais rebelde à terapêutica.

A sintomatologia inicial é bastante variável: os primeiros sintomas podem ser psíquicos, neurológicos ou digestivos.

Desordens emocionais e queda do rendimento escolar são manifestações freqüentes no início da enfermidade. A disartria é também um dos sintomas mais precoces; a princípio discreta, podendo simular gagueira ou um sotaque especial, progride para um borramento ou perda das consoantes; a fala torna-se lenta, podendo, entretanto, apresentar-se festinante; com o progredir da moléstia a disartria vai-se agravando, culminando em completa anartria.

A fácies costuma ser característica: de início retificação da rima oral, com repuxamento dos cantos da boca; com o evolver da moléstia, o paciente passa a exibir um riso estereotipado, com a boca entreaberta, a gengiva do maxilar superior exposta devido à retração do lábio na linha média.

O quadro neurológico é exclusivamente motor e dominado pela rigidez e por hiperreflexias, ambas as manifestações apresentando intensidade relativa de acordo com a variante clínica.

A rigidez começa geralmente por acometer um membro ou musculatura axial, evidenciando-se todo o seu cortejo semiológico: hipertonia plástica, exagero dos reflexos tônicos segmentares, sinal da roda dentada. Outros sinais da série parkinsoniana que costumam ocorrer na DHL são a seborréia da face e a sialorréia. Posteriormente instalam-se posturas anormais dos membros, geralmente do tipo em flexão. O segmento cefálico também é habitualmente atingido, surgindo distúrbios da mastigação e deglutição; a protrusão da língua ou sua manutenção podem ficar prejudicadas. A marcha altera-se, tornando-se limitados os movimentos associados dos membros superiores, instalando-se dificuldade e depois incapacidade de correr, erguer-se de uma cadeira ou do solo, virar-se. Os movimentos tornam-se lentos e a diadococinesia é comprometida.

O tremor constitui dado semiótico do maior valor, embora não se encontre obrigatoriamente presente e não seja exclusivo da moléstia. Surge quando o paciente assume uma atitude com o membro. O ritmo se assemelha ao parkinsoniano (4 a 8 por segundo), porém a amplitude é maior e atinge segmentos mais extensos. Geralmente se manifesta mais nitidamente nos membros superiores e bilateralmente. Quando o paciente estende os braços para a frente a movimentação simula o adejo dos pássaros ("Flügel Schlag", "wing-beating"). Intensifica-se durante o movimento e denota nitido caráter oposicionista. Ao realizar a prova index-nariz ou index-index, a amplitude aumenta no final do ato e o paciente geralmente não consegue manter o dedo imóvel no alvo determinado. A cabeça e o tronco podem ser acometidos pela hiperreflexia. A emoção agrava o tremor e o sono o faz cessar.

Raras vezes a hiperreflexia assume o tipo coréico ou coreatético. As formas distônicas, contudo, são mais contraditórias. A face e a língua por vezes apresentam contrações espasmódicas quando o doente tenta falar. Um de

nossos pacientes apresentava mioclonias arritmicas da língua e do véu; em outro havia mioclonias rítmicas da língua.

No estágio final o paciente pode apresentar crises tônicas de descerebração; mais freqüentemente, porém, o paciente apresenta atitudes distônicas e contrações das extremidades, do tipo em flexão.

A ocorrência de sinais piramidais geralmente não é mencionada na literatura mais recente. Wilson¹⁰⁴, porém, afirma que a zona lenticular amolecida pode invadir a cápsula interna, resultando sintomas corticospinais. Sinais de acometimento desse sistema foram registrados em 21 de 110 casos arrolados por Lüthy⁵¹ e em apenas 4% de nossos casos. Sinais cerebelares, ocorreram em 10%. Os nervos cranianos de regra são poupados, porém a convergência pode estar comprometida. Crises epiléticas têm sido observadas e revestem tanto o tipo generalizado, como focal, ou de ausência; convulsões ocorreram em 8% de nossos casos, geralmente na fase tardia.

Sintomas psíquicos constituíram a manifestação inicial em 10 a 25% da grande casuística de Scheinberg e Sternlieb⁷⁸, que os atribuem tanto à reação a uma doença de tal gravidade, como aos efeitos tóxicos do cobre nos centros intelectuais e integradores do cérebro. A natureza desses sintomas é extremamente variável. Já referimos a queda do aproveitamento escolar como sinal precoce; podem seguir-se apatia, inércia, diminuição da memória e falta de concentração. As alterações afetivas são comuns: as crianças tornam-se emotivas, irrequietas, irritáveis, agressivas. A expressão vaga e tola devida à fácies wilsoniana pode, porém, sugerir uma deficiência mental inexistente. Nas formas tardias podem configurar-se verdadeiras psicoses.

Manifestações sistêmicas — Afóra os casos de forma portal, em geral a semiologia do fígado nada revela de anormal. É muito freqüente que as provas funcionais resultem normais, mesmo em casos nos quais a biópsia hepática já revela cirrose. Entretanto, a ultra-sonografia abdominal revela precocemente as alterações hepáticas (Cançado e col.¹⁷). O baço é mais freqüentemente palpável que o fígado⁵⁴. Em algumas eventualidades a suspeita diagnóstica é despertada pela verificação de trombocitopenia ou pelo aparecimento de manifestações hemorrágicas.

Dos sinais extraneurológicos o mais importante é o anel de Kayser-Fleischer. Consiste em um halo castanho-esverdeado situado na superfície interna do limbo corneano. De regra bilateral, pode ser incompleto ou de largura variável. De estrutura delicada, como uma névoa, pode deixar de ser evidenciado se a luz da lanterna incidir perpendicularmente. Excepcionalmente, o anel só é visível à lâmpada de fenda. Segundo Cumings²³, em crianças com menos de 8 anos de idade o anel de Kayser-Fleischer e as manifestações neurológicas geralmente estão ausentes. Em 3 de nossos pacientes o anel não foi pesquisado, tendo o diagnóstico sido feito pelo exame necroscópico. Em 91 casos estava presente. Dos 8 pacientes em que estava ausente, 5 eram assintomáticos e 3 tinham menos de 10 anos de idade. Assinale-se que o anel foi observado à lâmpada de fenda na irmã de um de nossos pacientes, a qual tinha 19 anos nessa ocasião, só vindo a apresentar sintomatologia neurológica 9 anos depois. O anel resulta da deposição de grânulos de cobre na membrana de Descemet, como demonstra o estudo histoquímico^{2,46}. Com o tratamento pela penicilamina o anel pode reduzir-se ou mesmo desaparecer. O depósito de cobre no cristalino pode condicionar o aparecimento da chamada catarata em girassol.

Manchas cutâneas de coloração marrom já haviam sido assinaladas por Fleischer³³ em seu primeiro caso e sua freqüência deve ser maior que a mencionada na literatura¹⁰¹. As áreas de hiperpigmentação cutânea têm variada localização, mas são mais freqüentes nas faces anteriores da metade inferior das pernas. Ao contrário do que seria de supor, o fato não se deve a acúmulo

de cobre mas sim a aumento do pigmento melânico na camada basal da epiderme, talvez relacionado à disfunção hepática⁴⁸; não se esqueçam, contudo, as relações entre melanina e tirosinase, uma oxidase contendo cobre³⁰.

Lesões ósseas, de regra sob a forma de cistos nos ossos longos⁵⁴, têm sido encontradas na DHL; fraturas espontâneas podem levar à descoberta de alterações generalizadas do esqueleto, que podem preceder a instalação do quadro neurológico. O exame radiológico pode demonstrar variadas alterações ostearticulares^{13,17,29,56,70,101,102}.

Em nossa série predominaram os casos em que a moléstia se instalou com manifestações exclusivamente neurológicas. Destaque-se a presença de icterícia em 29,6% dos casos e de manifestações ostearticulares em 32,1% (contudo, a avaliação clínica, radiológica e cintilográfica das manifestações articulares, realizada em 31 pacientes, revelou índices bem mais elevados¹⁷).

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A dosagem de *ceruloplasmina* constitui elemento fundamental para o diagnóstico e pode ser realizada por métodos imunológicos ou por ensaios da atividade enzimática. O limite inferior da normalidade situa-se ao redor de 25mg/dl de sangue. Os pacientes com DHL geralmente apresentam valores abaixo de 5mg/dl e os heterozigotos, em torno de 15mg/dl.

A dosagem de *cobre* tem também grande interesse, não só para o diagnóstico, como para o controle do tratamento. O limite inferior da normalidade para o conteúdo de cobre total do sangue está em redor de 90 μ g/dl. Na DHL os valores são consideravelmente menores, podendo encontrar-se cifras abaixo de 40 μ g. Essa queda é devida ao fato de que, segundo Holmberg e Laurell⁴⁵, 96% do cobre total estão incorporados na molécula da ceruloplasmina. O cobre livre, ligado à albumina, está elevado na doença²².

Na urina encontram-se valores de cobre ultrapassando o limite superior da normalidade. O uso de penicilamina provoca, nos primeiros dias de tratamento, acentuada elevação da excreção urinária, que atinge valores de 5000 μ g/24h ou mais; este fato pode mesmo ser utilizado como teste diagnóstico.

Tem grande importância diagnóstica a determinação do cobre no fígado, em material colhido por biópsia. O limite superior da normalidade varia entre 10 (Scheinberg e Sternlieb⁷⁷) e 20mg/100g de material seco (Cumings²²). O estudo histológico geralmente demonstra a presença de cirrose pós-necrótica e o exame histoquímico revela acúmulo do metal, em maior quantidade nas células hepáticas que nas células estreladas².

Nos rins a função tubular mostra-se comprometida, talvez em decorrência de uma ação tóxica do cobre. Tal fato explica o eventual aparecimento de glicosúria e o aumento da excreção de fosfatos e cálcio (que pode induzir osteoporose e fraturas patológicas) e ácido úrico (e conseqüentemente hipouricemia). Enquanto as concentrações sanguíneas de aminoácidos são baixas ou normais, as urinárias estão elevadas, configurando uma verdadeira aminoacidúria renal. As provas de função renal, de resto, costumam ser normais; as alterações, quando existem, são discretas.

O exame eletrencefalográfico revelou-se normal em cerca de três quartos de nossos casos; nos demais, mostrou a existência de atividade irritativa, de desorganização do traçado ou de sofrimento cerebral. Em nossos pacientes a tomografia axial computadorizada tem confirmado os dados da literatura, revelando atrofia córtico-subcorticais, dilatação ventricular e/ou lesões hipoatenuantes do núcleo lenticular.

DIAGNÓSTICO PRECOCE DOS FAMILIARES

Tratando-se de doença transmitida por gene autossômico recessivo, mais de um membro da mesma família pode ser acometido. Por vezes se encontra uma criança que apresenta icterícia, cirrose e/ou crises de anemia hemolítica, e tem um irmão mais velho com DHL. O exame dessa criança pode fornecer dados pouco elucidativos, pois abaixo de 8 anos de idade, como vimos, o anel de Kayser-Fleischer e os sinais neurológicos geralmente estão ausentes.

Uma em cada 200 pessoas da população em geral é heterozigota para DHL e 10% dos heterozigotos têm ceruloplasmina baixa. Logo, 1 entre 2000 pessoas receberia o diagnóstico de DHL se se tomasse por base apenas a hipoceruloplasminemia⁸⁴. No entanto, a frequência da moléstia é de 3:100000 (Scheinberg e Sternlieb⁷⁸), o que significa que 94 heterozigotos seriam desnecessariamente tratados, com todos os riscos da terapêutica, para cada genuíno paciente assintomático.

Sternlieb e Scheinberg⁸⁴ verificaram que a concentração média de cobre no fígado (por 100g, peso seco) era nos heterozigotos de 11,7mg (normais: 3,15), enquanto os homozigotos tinham médias de 58,83 quando sintomáticos e de 98,35 se assintomáticos. Trata-se de achado surpreendente, que os autores interpretam assim: possivelmente a lesão do SNC só se estabelece após ter sido vencida a capacidade-tampão do fígado em fixar cobre, que, liberado na circulação, penetra no encéfalo.

A medida de incorporação de ⁶⁴Cu na ceruloplasmina é dada pela relação entre as concentrações de radiocobre no soro às 48h e 1 ou 2h após a ingestão de 2mg de cobre com atividade de 0,5 a 2,0mC (Sass-Kortsak e col.⁷¹, Sternlieb e col.⁸³). Em 19 controles normais, 19 pais de pacientes com DHL e 7 destes doentes, as médias geométricas dessa relação foram, respectivamente, de 1,372, 0,510 e 0,171; Sternlieb e col.⁸² concluem que essa relação constitui um método adequado para distinguir os portadores heterozigotos do gene da DHL, dos indivíduos homozigotos para seu alelo normal.

Osborn e Walshe⁶⁵ verificaram que um paciente com DHL concentrava no fígado menos de 17% do cobre injetado (7,5 a 12,0 μ C) enquanto os pais heterozigotos concentravam de 40 a 59% e os irmãos, presumivelmente homozigotos normais, captavam mais de 70%.

Outro método consiste em medir a captação de cobre radioativo no fígado e na coxa, obtendo assim um índice que normalmente é de 2,0 enquanto na DHL ele cai a 0,8; por outro lado, o acúmulo de cobre no fígado é mais rápido na forma hepática que na neurológica tardia⁶⁶. A liberação de radiocobre hepático, que se completa em uma semana, é retardada e incompleta nos heterozigotos e muito diminuída nos homozigotos⁶².

Não havendo insuficiência hepatolenticular o "turnover" corporal do radiocobre pode ser usado para identificar o defeito genético: a meia-vida média normal é de 27 dias, passando nos heterozigotos a 111 dias⁶³.

Outros estudos mostraram que a concentração de radiocobre nas fezes durante 10 a 14 dias após a administração intravenosa era de 24 a 40% da dose nos normais, de 7,8 a 23,8% nos heterozigotos e de 3,7 a 13,2% nos homozigotos; esta redução nas fezes é provavelmente conseqüente à diminuição da excreção biliar de cobre⁶⁴.

ANATOMIA PATOLÓGICA

A idéia original de Wilson, de que as lesões se restringem aos gânglios da base e ao fígado, não resistiu aos resultados dos estudos subseqüentes⁵⁴. Embora

o putâmen seja realmente a estrutura mais comprometida, seguido pelo globo pálido e núcleo caudado, outras formações (núcleo subtalâmico, tálamo, núcleo rubro, substância negra, núcleo denteado) e o próprio córtex cerebral podem ser afetados⁴². No SNC os níveis de cobre são particularmente elevados no córtex, gânglios da base, substância negra, núcleo rubro e córtex cerebelar^{23,41}; as cifras costumam ser 5 ou mais vezes superiores às normais. Em pacientes que faleceram em consequência da cirrose hepática e sem manifestações neurológicas têm sido observadas lesões degenerativas praticamente limitadas ao putâmen⁵⁴.

Importa frisar que, nos casos de início tardio, referidos geralmente como forma pseudosclerótica, não se encontram padrões histológicos característicos que possam individualizá-la e distingui-la da forma de Wilson. Existem várias combinações de lesões ativas e indolentes, e vários graus de comprometimento entre os locais preferenciais de lesão, de maneira que não se pode classificar a DHL, do ponto de vista patológico, em formas polares.

Os núcleos lenticulares mostram atrofia simétrica e coloração amarela ou avermelhada; a consistência é mais suave que a normal, principalmente no putâmen, onde se podem ver fissuras e depressões, dando à estrutura um aspecto de tecido "roído por vermes" ("vermoulu"); ou então o putâmen pode apresentar desintegração maciça, substituído por uma grande cavidade cística, principalmente em sua porção lateral; em alguns casos, a zona necrótica pode atingir a cápsula externa e o claustro. O globo pálido, geralmente pequeno e descolorido, raramente mostra desintegração grosseira; o núcleo caudado é o menos comprometido, mas sua superfície ventricular está achatada.

As alterações microscópicas são extremamente variáveis em relação ao tipo e distribuição, mas algumas feições são tão características que a doença de Wilson permanece como entidade histológica bem definida. O processo é puramente degenerativo e atinge as estruturas de suporte, os mecanismos de reparação e todos os constituintes parenquimatosos do tecido. Por todo o cérebro encontra-se aumento difuso de astrócitos de aspecto normal. Astrócitos gigantes de Alzheimer são vistos em várias regiões, porém se encontram em maior quantidade dentro ou na periferia das áreas com degeneração parenquimatosa. Estas células são classificadas em tipos I e II, sendo o tipo II muito mais comum. As células de Opalski⁶¹ são encontradas principalmente na substância cinzenta do córtex e dos gânglios da base, em associação com a glia de Alzheimer e também geralmente próximo aos focos de degeneração.

O fígado apresenta tamanho menor que o normal; é descolorido; sua superfície mostra nódulos de tamanhos variáveis. Microscopicamente, o processo cirrótico é do tipo pós-necrótico, com variações regionais na morfologia histológica. Uzman⁹⁰ demonstrou, por método histoquímico com ácido rubeânico, que as células de Kupffer não contêm cobre; este se deposita no hepatócito e há pouco acúmulo de cobre no tecido conjuntivo trabecular. A microscopia eletrônica evidenciou que o lisossomo da célula hepática era a estrutura que acumulava o cobre⁸¹. O baço é geralmente de volume aumentado em consequência de fibrose e congestão. Nos ossos observa-se osteoporoze difusa ou focal e fragmentação do osso na superfície articular; por vezes se caracteriza a osteomalácia. Foram descritas lesões no coração^{3,14}. Nos rins não foram encontradas alterações estruturais consistentes.

RELAÇÕES ENTRE A DHL E OUTRAS MOLÉSTIAS HEPATOCEREBRAIS

Segundo Adams e Foley¹, a astrocitose protoplasmática difusa, com alterações relativamente discretas dos elementos neuronais do cérebro, constitui uma característica não só da DHL como de hepatopatias graves de diversas etiologias, com sintomatologia neurológica durante vários dias antes do óbito; esses autores não encontraram células de Opalski nestes casos, porém as células

tipos I e II de Alzheimer eram muito frequentes. Estes resultados foram formalmente contraditados por Baker⁴, e Lumsden⁴⁹ ressalta que se trata de resposta de tipo agudo e que, por analogia com outros processos neuropatológicos, a astrocitose protoplasmática deveria evolver para o tipo fibroso em prazo relativamente curto. Note-se, porém, que o grupo de Adams, em trabalho ulterior⁹², apresenta o resultado do estudo de sobreviventes de coma hepático apresentando sintomatologia neurológica durante longos períodos, de até 10 anos; foram encontradas células de Opalski nestes casos. Por outro lado, em macacos com encefalopatia experimental por amônia foi observada proliferação de astrócitos protoplasmáticos, sendo encontradas células do tipo II de Alzheimer e não as do tipo I; elementos semelhantes às células de Opalski também foram assinalados²¹. Experiências de Mossakowski e col.⁶⁰ em culturas de astrócitos demonstraram que as células de Opalski são obtidas seja por intermédio de adição de soro de pacientes com DHL ou coma hepático, seja após administração de íons exógenos de cobre ou amônia.

Por outro lado, a existência de doenças hepáticas que simulam a DHL, tanto nas manifestações sistêmicas e neurológicas, como em aspectos laboratoriais, suscita, eventualmente, grandes dificuldades diagnósticas⁹³. Entre essas hepatopatias destaca-se a cirrose biliar primária que, em sua fase de insuficiência hepatocelular, pode acompanhar-se de distonias, atetose e coreatetose, e mesmo, por vezes, de anel pigmentado na córnea^{34,39}. Entretanto, a sintomatologia inicia-se em faixa etária bem mais avançada do que sói ocorrer na DHL. Do ponto de vista laboratorial, a presença de hipercuprúria e de altas concentrações de cobre no fígado constitui dado desconcertante, porém a distinção é feita pela existência de altos níveis de ceruloplasmina e cobre sérico.

A dificuldade do diagnóstico diferencial aumenta quando a DHL se inicia como hepatopatia, não sendo infreqüente sua manifestação como hepatite crônica ativa⁷⁹.

Cumprе ressaltar que as eventualidades acima referidas são extraordinariamente raras e que o caráter genético da DHL pode auxiliar no diagnóstico diferencial.

ETIOPATOGENIA

O caráter familiar da moléstia já havia sido reconhecido desde as primeiras descrições; 8 dos 12 casos relatados em 1912 por Wilson¹⁰⁴ pertenciam a três famílias. Após o descobrimento de sua natureza metabólica, observou-se que, quando a DHL é diagnosticada, o distúrbio bioquímico pode ser encontrado em pais, filhos e irmãos assintomáticos. Admite-se que a herança seja autossômica recessiva⁶.

O organismo metaboliza o cobre a partir dos alimentos, nos quais o metal se encontra ligado principalmente às proteínas e aos aminoácidos. Pequenas quantidades são eliminadas pela urina, mas a bile é a via de excreção mais importante⁶⁴.

O cobre absorvido do trato intestinal liga-se labilmente com a albumina plasmática, que assim o transporta até o fígado e a outros tecidos. No fígado desfaz-se a ligação Cu-albumina e o cobre passa a ser incorporado na metalotioneína⁶⁷ e daí transferido a partículas celulares para gerar cuproproteínas, como a ceruloplasmina, a citocromo-oxidase e a superoxidodismutase. A citocromo-oxidase é importante como enzima final do metabolismo oxidativo e a superoxidodismutase é a enzima protetora das células nas ações tóxicas dos radicais superóxido¹⁰².

A ceruloplasmina é uma globulina α_2 , contendo 0,3% de cobre e constituída por 6 átomos de cobre⁷⁸ normalmente carrega 96% do cobre sanguíneo (Holmberg e Laurell⁴⁵). Estudos com radioisótopos mostraram que a cerulo-

plasmina humana, em presença de neuraminidase (que a degrada, liberando ácido siálico), desaparece da circulação do coelho em alguns minutos, enquanto a ceruloplasmina do animal tem vida média de 56 horas; se o resíduo galactosídico for removido pela galactosidase, a vida média da ceruloplasmina retorna ao normal. Estes estudos⁵⁸ permitiram formular a hipótese de que, na DHL, haveria um defeito genético no sistema enzimático que catalisa a transferência de ácido siálico para a molécula de ceruloplasmina. Por outro lado, parece provável que esta funcione como proteína de armazenamento. A degradação da ceruloplasmina se faz no hepatócito após a remoção de dois dos resíduos terminais de ácido siálico; a clivagem ocorre provavelmente nos lisossomos.

Mediante métodos imunológicos, Carrico e col.¹⁹ demonstraram a existência de apoceruloplasmina no soro humano. Sua concentração normal é da ordem de 4,8mg/dl caindo na DHL para 1,4; essa redução é, entretanto, inferior à da holoceruloplasmina, pois o quociente holo/apoceruloplasmina, que normalmente é de 11,3, na DHL passa a 1,7 (Matsuda e Holtzman⁵⁵).

Por meio de cromatografia e eletroforese foram separadas duas espécies de ceruloplasmina (I ou C-C e II ou C-d), provavelmente relacionadas ao polimorfismo genético de isozimas. Seu significado na patogenia da DHL, entretanto, é obscuro, pois o conteúdo de cobre, aminoácidos e carboidratos, bem como a atividade enzimática e as características espectrais, são idênticas em ambas as frações cromatográficas⁷⁵.

É indiscutível o fato de que somente na DHL e na carência de cobre se observa lentidão na síntese de ceruloplasmina⁷⁵. Portanto, era lógico que a primeira teoria etiopatogênica inculcasse os distúrbios na síntese de ceruloplasmina como determinantes da DHL. Algumas observações, entretanto, parecem contraditar essa teoria: a) não há relação obrigatória entre grau de redução de síntese de ceruloplasmina e quantidade de cobre depositada nos tecidos; b) os heterozigotos podem possuir concentrações muito baixas de ceruloplasmina e nunca desenvolvem sintomatologia clínica.

Em um dos raríssimos casos de DHL com níveis normais de ceruloplasmina foi verificado retardo na integração do cobre radioativo na molécula de ceruloplasmina, aventando-se a hipótese de que talvez a sua estrutura química fosse anormal⁷¹. Tais fatos poderiam explicar porque os heterozigotos permanecem sadios apesar da baixa concentração de ceruloplasmina, pois parte desta seria qualitativamente normal, enquanto o doente com o mesmo valor quantitativo pode possuir uma variante anormal⁷².

Após ser absorvido ao nível intestinal, parte do cobre é depositada no fígado para ser incorporada, em minutos ou horas, na cuproproteína hepática isolada em 1938 por Mann e Keilin⁵², a qual apresenta aproximadamente a mesma composição em aminoácidos mas contém maior concentração de cobre nos pacientes com DHL que nos normais⁵⁹. No doente com DHL parece não se efetuar a transferência de cobre da cuproproteína hepática para a ceruloplasmina, provavelmente em razão de um defeito genético na síntese desta última. Outra parte do cobre proveniente do trato intestinal se liga à lactose-6-desidrogenase, à citocromo-oxidase, à tirosinase e a outras cuproproteínas.

Adminstrando-se ⁶⁴Cu a coelhos, verifica-se que a atividade do cobre na ceruloplasmina se aproxima, porém não excede, a da hepatocupreína durante horas. Em indivíduos normais o radiocobre administrado logo aparece no sangue como cobre livre em alta concentração, que rapidamente cai, para depois reaparecer como integrante da molécula de ceruloplasmina. Sendo de 132.000 seu peso molecular⁷⁶, pouco cobre se difunde através das membranas capilares para os compartimentos inter ou intracelular. Já na DHL uma parte do cobre hepático alcança o plasma em tempo, mas, não estando incorporado na ceruloplasmina, é livre para se difundir através das membranas capilares; grande parte é excretada, mas o restante penetra nas células em maior quantidade

que normalmente⁷², depositando-se em quase todos os tecidos do organismo, particularmente no fígado, cérebro e córnea.

O cobre excretado nas fezes provém: a) do cobre da dieta que não foi absorvido; b) do cobre que passou pelo hepatócito e se ligou a duas frações protéicas específicas da bile, com pesos moleculares de aproximadamente 4.000-5.000 e 8.000 (Frommer³⁸); c) de secreções como saliva e sucos gástricos, pancreático e jejunal; d) do catabolismo fisiológico da ceruloplasmina. Na DHL a excreção do cobre pela bile está reduzida à metade³⁷, o que induziu à idéia errônea de um aumento da absorção intestinal desse metal¹⁰⁵. O balanço metabólico do metal é positivo, pois o aumento da excreção urinária é insuficiente para compensar a diminuição da excreção fecal (O'Reilly e col.⁶⁴). Segundo estes autores, é admissível que a anormalidade da metabolização hepática e a redução da excreção biliar do cobre estejam estreitamente relacionadas com o alelo e o gene anormal na DHL.

Discute-se se a lesão celular é determinada por um efeito tóxico do cobre. Tal suposição é apoiada pelos resultados obtidos em ratos por Palladini e col.⁶⁸ que, administrando intraperitonealmente azida sódica e um sal uréico de cobre, produziram lesões encefálicas muito semelhantes às observadas na DHL. Dados experimentais e histopatológicos, em animais^{5,50,95} e no homem⁹⁵, sugerem uma interferência do acúmulo de metal na atividade enzimática intracelular, particularmente das mitocôndrias neuronais e dos lisossomos hepatocíticos. O cobre inibe a enzima adenosina-trifosfatase da membrana microssômica, determinando bloqueio no transporte iônico¹⁰².

TRATAMENTO

Até há poucos anos, tentara-se o tratamento da DHL por meio de uma resina permutadora de íons (etilendiaminotetracetato dissódico de cálcio, Versene) ou de um quelante (2,3-dimercaptopropanol, BAL) e infusão de ceruloplasmina pura^{9,74}, com resultados nulos ou medíocres.

Atualmente, o tratamento é feito com a D-penicilamina, adjuvada com o emprego de sulfeto de potássio visando a diminuir a quantidade de cobre absorvível; embora alguns^{12,36,87} neguem a eficácia do K_2S , outros a aceitam^{10,69,73}. Recomenda-se a adoção de dieta vegetal, que reduz a positividade do balanço metabólico de cobre¹⁸. É importante frisar que nenhuma dieta livremente escolhida possui tão pouco cobre que evite o aparecimento da moléstia em um homozigoto: a ingestão de 50g por dia é suficiente para encharcar os tecidos desses pacientes⁸⁴.

A penicilamina, ou ácido- α -amino- β -mercapto-isovalérico, ou ainda β,β -dimetilcisteína, foi descoberta em 1953 por Walshe⁹⁶ na urina de indivíduos submetidos a tratamento com penicilina, atingindo maiores níveis em pacientes com lesão hepática. É um produto de hidrólise da penicilina que, por possuir um carbônio assimétrico, se apresenta sob formas isoméricas; a configuração dextrógira é a preferida, por ser menos tóxica²⁸. Em 1956 foi introduzida no tratamento da DHL por Walshe^{97,98}. A administração oral desse agente determina elevação do cobre plasmático e intenso aumento da cuprurise.

Apenas pequena percentagem do cobre presente em indivíduos normais ou com DHL consegue franquear uma membrana semipermeável *in vitro*. Após incubação com penicilamina 0,02M o cobre é mobilizado de tal forma que 29 a 37% do cobre sérico dos normais e 77 a 87% dos pacientes com DHL franqueiam a membrana. É provável que um átomo de cobre seja incorporado por duas moléculas de penicilamina⁵⁷.

Atualmente, devido à possibilidade de reações colaterais, recomenda-se iniciar com 250mg por dia, aumentando-se igual dose cada 4 dias, até atingir

1.000mg; insistir nesta dose durante três meses e só aumentá-la se se tiver mostrado ineficaz. O medicamento deve ser ministrado meia hora antes das refeições a fim de evitar a sua combinação com o cobre dos alimentos. A longo prazo observa-se eventualmente certa redução da eficácia terapêutica, o que pode obrigar à elevação da dose⁸⁹.

Os resultados geralmente começam a manifestar-se depois de um ou dois meses de tratamento, mas por vezes as melhoras já se evidenciam após duas semanas. Tal fato decorre da reorganização dos grupamentos sulfidrila de enzimas subcelulares necessárias para o metabolismo oxidativo, porém persiste a elevação dos níveis de cobre tecidual⁵³. Os resultados variam de doente para doente, mas geralmente são melhores nas formas tardias, tipo pseudosclerose, ponto em que a nossa experiência concorda integralmente com a de Denny-Brown²⁵. De acordo com a evolução clínica e com os níveis de cuprúrese, pode-se passar a doses de manutenção da ordem de 500mg diários. A terapêutica não deve ser interrompida durante a vida toda do paciente, observando-se sempre recaídas quando tal acontece.

O efeito da medicação é ratificado, em alguns casos, pela diminuição ou desaparecimento do anel de Kayser-Fleischer. Há também aumento da captação hepática de radiocobre após tratamento prolongado⁴⁰. Em 2 pacientes de Cumings²⁴ que faleceram em coma hepático após vários anos de tratamento com BAL e penicilamina, as concentrações de cobre no fígado e cérebro se haviam provavelmente reduzido, pois se situavam quase dentro da faixa normal. Isto geralmente ocorre após 5 anos de tratamento⁵³.

Até 1961 6 de nossos pacientes foram tratados com BAL e 2 com resina permutadora de ions, sempre sem resultado favorável. A partir de 1962 passamos a empregar D-penicilamina, estando atualmente com 84 pacientes tratados. Os melhores resultados foram observados nos casos de pseudosclerose de Westphal-Strümpell, não obstante a maior duração média da moléstia neste grupo. Em nossos pacientes, o tratamento com penicilamina provocou nítida elevação dos valores médios de ceruloplasmina e cobre sérico, bem como da cuprúria. A modificação, entretanto, não se revelou estatisticamente significativa, em vista da grande dispersão dos dados.

Os efeitos colaterais são infreqüentes e geralmente caracterizados pelas reações de hipersensibilidade e alterações da série branca e/ou plaquetínea. Têm sido descritos casos de nefrose. A penicilamina provoca espoliação de piridoxina, que deve ser administrada na dose de 50mg ao dia. O tratamento dos efeitos colaterais consistiu na suspensão temporária da droga e no uso de prednisona (30 a 60mg/dia). Somente em um paciente não foi possível reintroduzir a penicilamina. Em nenhum dos 13 casos estudados foi verificada a presença de células LE ou de fator antinúcleo.

Sunderman e col.⁸⁸ obtiveram bons resultados clínicos e bioquímicos em um paciente tratado com dietilditiocarbamato de sódio, um reagente utilizado na dosagem de cobre em materiais biológicos.

Em casos de reações tóxicas à D-penicilamina tem sido utilizado, com bons resultados clínico-laboratoriais, outro quelante, o dicloridrato de trietilenotetramina^{26,78,100} (Teta), na dose de 1 a 2g ao dia.

Nas formas caracterizadas pelo alto grau de rigidez, a associação de L-Dopa pode ser benéfica.

Em casos graves e rebeldes à penicilamina e à trietilenotetramina, o transplante ortotópico de fígado tem proporcionado resultados extremamente favoráveis, com regressão completa e duradoura das manifestações clínicas e laboratoriais^{8,27}.

Aspecto importante é o relacionado com o momento oportuno para instituir a terapêutica em familiares assintomáticos. A comprovação de defeito bioquímico indiscutível (ceruloplasminemia inferior a 20mg/dl; hiperaminoacidúria; concentração de cobre em tecido hepático colhido por biópsia superior a 20mg/100g, peso seco) impõe a instituição do tratamento, utilizando-se a determinação da cuprurêse nos 5 primeiros dias como mais um dado valioso para a confirmação do diagnóstico. Se, porém, o quadro bioquímico não for preciso, fazendo supor que se trate de heterozigoto, deverá o paciente permanecer sob observação, atentando-se especialmente para a função hepática, se se tratar de criança.

Neste particular a experiência de Sternlieb e Scheinberg⁸⁴ é convincente: 45 pacientes assintomáticos assim permaneceram durante um período de tratamento de 142 anos-pacientes; uma estimativa baseada na evolução natural da DHL em 121 casos sintomáticos sugere que durante esse intervalo os sintomas deveriam ter aparecido em pelo menos 8 daqueles casos. Em 1976 Sternlieb⁸¹ analisou um total de 76 pacientes assintomáticos acompanhados durante um período médio de 7 anos, num total de 543 anos-pacientes: em decorrência de irregularidades no tratamento, só 2 desenvolveram sintomas, que regrediram quando a terapêutica passou a ser rigorosamente seguida.

PROGNÓSTICO

O prognóstico quoad vitam depende essencialmente das condições hepáticas por ocasião do diagnóstico e de sua evolução ulterior. Antes de falecer em consequência de traumatismo crânio-encefálico, a paciente com maior período de seguimento em nossa Clínica, em tratamento com penicilamina, apresentava mínimas manifestações residuais após 15 anos, tendo havido apreciável regressão do anel de Kayser-Fleischer. Os melhores resultados são observados nas formas tardias (tipo pseudosclerose).

RESUMO

O autor descreve as características clínicas e laboratoriais de 102 casos de degeneração hepatolenticular (DHL) acompanhados no Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo desde 1946. É analisado o problema do diagnóstico precoce dos familiares, a anatomia patológica da moléstia de Wilson é revista, e são examinadas as relações entre a DHL e outras moléstias hepatocerebrais. A etiopatogenia é discutida à luz das pesquisas mais recentes, sendo destacado o papel da redução da excreção biliar de cobre. A seguir são expostos os resultados do tratamento com D-penicilamina em 84 casos.

SUMMARY

Hepatolenticular degeneration: a comprehensive review apropos of 102 cases.

The author reports the clinical and laboratory findings in 102 patients of hepatolenticular degeneration (HLD) followed up in the Department of Neurology, University of São Paulo Medical School, since 1946. The problem of the early diagnosis of the relatives is analysed, the pathology of Wilson's disease is reviewed, and the relationship of HLD with other hepatocerebral diseases is examined. Etiopathogenesis is discussed according to current researches, the role of the decreased biliary copper excretion being emphasized. The results of treatment with D-penicillamine in 84 cases are commented.

REFERÊNCIAS

1. Adams RD, Foley JM — The neurological disorders associated with liver disease. *Res Pub Ass nerv ment Dis*, 32:198-232, 1953.
2. Arioka I, Tanimukai H, Nishimura T, Nishinuma K, Ueda M — Histochemical study on hepatolenticular degeneration. *Folia psychiat neurol jap.*, 17:373-380, 1963.
3. Azevedo EM, Scaff M, Barbosa ER, Gouveia Neto AE, Canelas HM — Heart involvement in hepatolenticular degeneration. *Acta neurol scand* 58:296-303, 1978.
4. Baker AB — Discussion of the paper by Adams & Foley. *Res Pub Ass Res nerv ment Dis* 32:233-234, 1953.
5. Barka T, Sheuer PJ, Schaffner F, Popper H — Structural changes of liver cells in copper intoxication. *Archs Path* 78:331-349, 1964.
6. Bearn AG — Genetic and biochemical aspects of Wilson's disease. *Am J Med*, 15: 442-449, 1953.
7. Bearn AG, Kunkel HG — Abnormalities of copper metabolism in Wilson's disease and their relationship to the aminoaciduria. *J clin Invest* 33:400-409, 1954.
8. Beart RW Jr., Putnam CW, Porter KA, Starzl TE — Liver transplantation for Wilson's disease. *Lancet* ii:176-177, 1975.
9. Bickel H — Attempts at caeruloplasmin substitution in Wilson's disease. In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, pp 273-281.
10. Bickel H — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, p. 249.
11. Van Bogaert L, Willocx E — Études anatomo-cliniques sur la dégénérescence hépatolenticulaire: forme portale de la maladie de Wilson, forme familiale de la pseudosclérose de Westphal-Strümpell. *Revue neurol* 66:461-497, 1936.
12. Boulding JE — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, p. 249.
13. Boudin G, Pépin B — Osteoarticular changes in hepatolenticular degeneration. In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, pp.233-236.
14. Böttiger LE, Möllerborg H — Increased copper content of hypertrophic myocardium. *Acta med scand* 165:413-416, 1959.
15. Bramwell B — Clinical studies. X: Familial cirrhosis of the liver: four cases of acute fatal cirrhosis of the liver in the same family, the patients being respectively nine, ten, fourteen, and fourteen years of age; suggestive relationship to Wilson's progressive degeneration of the lenticular nucleus. *Edinburgh med J* 17:90-99, 1916.
16. Cancado ELR, Rocha MS, Barbosa ER, Scaff M, Cerri GG, Magalhães A, Canelas HM — Abdominal ultrasonography in hepatolenticular degeneration: a study of 33 patients. *Arq. Neuro-Psiquiat.*, 45:131-136, 1987.
17. Canelas HM, Carvalho N, Scaff M, Vitule A, Barbosa ER, Azevedo EM — Osteoarthropathy of hepatolenticular degeneration. *Acta neurol scand*, 57:491, 1978.
18. Canelas HM, de Jorge FB, Tognola WA — Metabolic balances of copper in patients with hepatolenticular degeneration submitted to vegetarian and mixed diets. *J Neurol Neurosurg Psychiat*, 30:371-373, 1967.
19. Carrico RJ, Deutsch HF, Beinert H, Orme-Johnson WH — Some properties of an apoceruloplasmin-like protein in human serum. *J biol Chem*, 244:4141-4146, 1969.
20. Cartwright GE, Hodges RE, Gubler CJ, Mahoney JP, Daum K, Wintrobe MM, Bean WB — Studies on copper metabolism. III: Hepatolenticular degeneration. *J clin Invest* 33:1487-1501, 1954.
21. Cole M, Rutherford RB, Smith FO — Experimental ammonia encephalopathy in the primate. *Archs Neurol*, Chicago, 26:130-136, 1972.
22. Cumings JN — The copper and iron content of brain and liver in the normal and in hepatolenticular degeneration. *Brain* 71:410-415, 1948.
23. Cumings JN — Trace metals in the brain and in Wilson's disease. *J clin Path*, 21:1-7, 1968.

24. Cumings JN — Biochemistry of basal ganglia. In Vinken PJ & Bruyn GW: Handbook of Clinical Neurology, Vol. 6 (Disease of Basal Ganglia). North-Holland, Amsterdam, 1968, pp.116-132.
25. Denny-Brown D — Hepato-lenticular degeneration (Wilson's disease): two different components. *New Engl J Med* 270:1149-1156, 1964.
26. Dubois RS, Rodgerson DO, Slovis TL, Hambridge KM, Bianchi TA — Triethylenetetramine dihydrochloride in Wilson's disease. *Lancet* i:775, 1970.
27. Dubois RS, Rodgerson DO, Starzl TE — Copper metabolism in Wilson's disease: effects of liver transplantation. *Resumé des Communications, III ème Symposium International sur la Maladie de Wilson, Paris, 1973.*
28. Eaglesfield P. — The chemistry of penicillamine. In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts.* Blackwell, Oxford, 1961, pp 254-259.
29. Feller EL, Shumacher HR — Osteoarticular changes in Wilson's disease. *Arthritis Rheum* 15:259-266, 1972.
30. FITZPATRICK TB — Disorders of melanin metabolism. In Wintrobe MM, Thorn GW, Adams RD, Bennett IL, Braunwald E, Esselbacher KJ, Petersdorf RG: *Harrison's Principles of Internal Medicine.* McGraw-Hill, New York, ed. 6, 1970, pp 614-620.
31. Fleischer B — Zwei weitere Fälle von grünlicher Verfärbung der Kornea. *Klin Mbl Augenheilk*, 41:489-491, 1903.
32. Fleischer B — Die periphere braun-grünlich Hornhautverfärbung, als Symptom einer eigenartigen Allgemeinerkrankung. *Münch med Wschr*, 96:1120-1123, 1909.
33. Fleischer B — Über eine der «Pseudosklerose» nahestehende bisher unbekannte Krankheit (gekennzeichnet durch Tremor, psychische Störungen, bräunliche Pigmentierung bestimmter Gewebe, insbesondere auch der Hornhautperipherie, Lebercirrhose). *Dt Z NervHeilk*, 44:179-201, 1912.
34. Fleming CR, Dickson ER, Wahner HW, Hollen-Horst RW, McCall JT — Pigmented corneal rings in non-wilsonian liver disease. *Ann intern Med*, 86:285-288, 1977.
35. François R, Larbre F, Nicolás, Mallein, Ruitton-Ugliengo — Maladie de Wilson à forme hépatique pure chez un nourrisson. *Lyon méd*. 8:467-482, 1958.
36. Franglen GT — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts.* Blackwell, Oxford, 1961, p. 248.
37. Frommer D — The measurement of biliary copper secretion in human. *Clin Sci*, 42:26P, 1972.
38. Frommer D — The transport of copper in human and rat bile. *Resumé des Communications, III ème Symposium International sur la Maladie de Wilson, Paris, 1973.*
39. Frommer D, Morris I, Sherlock S, Abrams I, Newman S — Kayser-Fleischer-like rings in patients without Wilson's disease. *Gastroenterology*, 72:1331-1335, 1977.
40. Goldstein NP, Tauxe WN, McCall JT, Randall RV, Gross JB — Wilson's disease (hepatolenticular degeneration): treatment with penicillamine and changes in hepatic trapping of radioactive copper. *Archs Neurol*, Chicago, 24:391-400, 1971.
41. Grashchenkov NI, Hekht BM — Copper content of brain tissues in health and in certain nervous diseases. *Expl Neurol* 2:573-580, 1960.
42. Greenfield JG — Hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). In Blackwood W, McMenemey WH, Meyer A, Norman RM, Russell DS: *Greenfield's Neuro-pathology.* Arnold, London, ed 2, 1965, pp 576-580.
43. Hall HC — *La Dégénérescence Hépatolenticulaire.* Masson, Paris, 1921.
44. Haurowitz F — Über eine Anomalie des Kupferstoffwechsels. *Z physiol Chem*, 190:72-74, 1930.
45. Holmberg CG, Laurell CB — Investigations in serum copper. II: Isolation of the copper containing protein, and a description of some of its properties. *Acta chem scand* 2:550-556, 1948.
46. Howell JS — Histochemical demonstration of copper in copper fed rats and in hepatolenticular degeneration. *J Path Bact* 77:473-484, 1959.
47. Kehler F — Zur Ätiologie und Nosologie der Pseudosklerose Westphal-Wilson. *Z ges Neurol Psychiat* 129:488-542, 1930.

48. Leu ML, Strickland T, Wang CC, Chen TSN — Skin pigmentation in Wilson's disease. *J Am med Ass*, 211:1542, 1543, 1970.
49. Lumsden CE — Pathogenetic mechanisms in the leuco-encephalopathies, in anoxic-ischaemic processes, in disorders of the blood and in intoxications. In Vinken PJ & Bruyn GW: *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 9 (Multiple Sclerosis and other Demyelinating Diseases). North-Holland, Amsterdam, 1970, p.638.
50. Lundquist RR — Studies on the pathogenesis of hepatolenticular degeneration. III: The effect of copper on rat liver lysosomes. *Am J Path* 53:903-927, 1968.
51. Lüthy F — Über die hepato-lentikuläre degeneration (Wilson-Strümpell). *Dt Z NervHeilk*, 123:101-181, 1931.
52. Mann T, Keilin D — Haemocuprein and hepatocuprein, copper-protein compounds of blood and liver in mammals. *Proc R Soc, Ser B*, 126:303-315, 1938.
53. Marecek A, Heyrovsky A, Volek V — The effect of long term treatment with penicillamine on the copper content in the liver in patients with Wilson's disease. *Acta hepato-gastroent*, 22:292-296, 1975.
54. Martin J P — Wilson's disease. In Vinken PJ & Bruyn GW: *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 6 (Diseases of the Basal Ganglia). North-Holland, Amsterdam, 1968, pp 267-278.
55. Matsuda I, Holtzman NA — Detection of apoceruloplasmin by radioimmunoassay: preliminary results in copper deficiency, Wilson's disease and Menke's syndrome. *Resumé des Communications*, III ème Symposium International sur la Maladie de Wilson, Paris, 1973.
56. Mindelzun R, Elkin M, Scheinberg IH, Sternlieb I — Skeletal changes in Wilson's disease: a radiological study. *Radiology*, 94:127-132, 1970.
57. Morell AG — Copper and proteins (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, p. 52.
58. Morell AG, Irving RA, Sternlieb I, Scheinberg IH — Physical and chemical studies on ceruloplasmin. V: Metabolic studies on sialic acid-free ceruloplasmin in vivo. *J biol Chem*, 243:155-159, 1968.
59. Morell AG, Shapiro JR, Scheinberg IH — Copper binding protein from human liver. In Walshe JM & Cumings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, pp36-42.
60. Mossakowski MJ, Krasnicka Z, Renhawek K — Contribution des études des cellules d'Opalski à la connaissance de la pathogénie des lésions du système nerveux central dans les maladies hépatocérébrales. *Revue neurol* 125:248, 1971.
61. Opalski A — Über eine besondere Art von Gliazeelen bei der Wilson-Pseudosklerose-Gruppe. *Z ges Neurol Psychiat*, 124:420-425, 1930.
62. O'Reilly S, Pollycove M, Tono M, Herradora L — Abnormalities of copper in Wilson's disease. II: The internal kinetics of copper. *Archs Neurol*, Chicago 24:481-488, 1971.
63. O'Reilly S, Strickland T, Weber PM, Beckner WN, Shipley L — Abnormalities of the physiology of copper in Wilson's disease. I: The whole-body turnover of copper. *Archs Neurol*, Chicago, 24:385-390, 1971.
64. O'Reilly S, Weber PM, Oswald M, Shipley L — Abnormalities of the physiology of copper in Wilson's disease. III: The excretion of copper. *Archs Neurol*, Chicago, 25:28-32, 1971.
65. Osborn SB, Walshe JM — Copper uptake by the liver: study of a Wilson's disease family. In Walshe JM & Cummings JN: *Wilson's Disease, Some Current Concepts*. Blackwell, Oxford, 1961, pp. 141-150.
66. Osborn SB, Walshe JM — Studies with radiocopper (⁶⁴Cu) in Wilson's disease: the liver/thigh ratio. *Clin Sci*, 27:319-328, 1964.
67. Owen CA Jr, Dickson ER, Goldstein N, Baggentoss AH, McCall JT — Hepatic subcellular distribution of copper in primary biliary cirrhosis: comparison with other hyperhepatocupric states and review of the literature. *Mayo Clin Proc*. 52:73-80, 1977.
68. Palladini G, Conford A, Medolago L, Venturini G, Zelazek S, Pistone A — Ripro-

69. Popper H — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: Wilson's Disease, Some Current Concepts. Blackwell, Oxford, 1961, p. 249.
70. Rosenoer VM, Michell RC — Skeletal changes in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration). *Br J Radiol*, 32:805-809, 1959.
71. Sass-Kortsak A, Cherniak M, Geiger DW, Slater RJ — Observations on ceruloplasmin in Wilson's disease. *J clin Invest*, 38:1672-1682, 1959.
72. Scheinberg IH — Coper metabolism: a review. In Walshe JM & Cumings JN: Wilson's Disease, Some Current Concepts. Blackwell, Oxford, 1961, pp 4-17.
73. Scheinberg IH — Further clinical aspects (Discussion). Walshe JM & Cumings JN: Wilson's Disease, Some Current Concepts. Blackwell, Oxford, 1961, pp 248-249.
74. Scheinberg IH — Discussão do trabalho de Bickel *o*, pp 282-285.
75. Scheinberg IH, Gitlin D — Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). *Science*, NY, 116:484-485, 1952.
76. Scheinberg IH, Morell AG — Ceruloplasmin. In G. Eichhorn: *Inorganic Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, 1973, Vol. I, capit. 10, pp.306-319.
77. Scheinberg IH, Sternlieb I — The dual role of the liver in Wilson's disease. *Med Clins N Am*, 47:815-824, 1963.
78. Scheinberg IH, Sternlieb I — Wilson's Disease. Saunders, Philadelphia, 1984.
79. Scott J, Gollan JL, Samourian S, Sherlock S — Wilson's disease presenting as chronic active hepatitis. *Gastroenterology*, 74:645-651, 1978.
80. Sternlieb I — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: Wilson's Disease, Some Current Concepts. Blackwell, Oxford, 1961, p. 248.
81. Sternlieb I — Present status of diagnosis and prophylaxis of asymptomatic patients with Wilson's disease. In C M Leevy *Diseases of the Liver and Biliary Tract*. Karger, Basel, 1976, pp. 137-142.
82. Sternlieb I, Morell AG, Bauer CD, Combes B, De Bobes-Sternberg S, Scheinberg IH — Detection of the heterozygous carrier of the Wilson's disease gene. *J clin Invest* 40:707-715, 1961.
83. Sternlieb I, Morell AG, Scheinberg IH — Detection of the heterozygous carrier of the Wilson's disease gene. *Resumo in J clin Invest*, 38:1046, 1959.
84. Sternlieb I, Scheinberg IH — Prevention of Wilson's disease in asymptomatic patients. *New Engl J Med*, 278:352-359, 1968.
85. Strümpell A — Über die Westphal'sche Pseudosklerose und über diffuse Hirnsklerose, insbesondere bei Kindern. *Dt Z NervHeilk*, 12:115-149, 1898.
86. Strümpell A — Ein weiterer Beitrag zur Kenntniss der sog. Pseudosklerose. *Dt Z NervHeilk*, 14:348-355, 1899.
87. Summer DW — Further clinical aspects (Discussion). In Walshe JM & Cumings JN: Wilson's Disease, Some Current Concepts. Blackwell, Oxford, 1961, p. 249.
88. Sunderman FW Jr, White JC, Sunderman FW — Metabolic balance studies in hepatolenticular degeneration treated with diethylthiocarbamate. *Am J Med*, 34:875-888, 1963.
89. Tu J, Blackwell RQ, Hou T — Tissue copper levels in Chinese patients with Wilson's disease. *Neurology*, Minneapolis, 13:155-159, 1963.
90. Uzman LL: Histochemical localization of copper with rubeanic acid. *Lab Invest* 5:299-305, 1956.
91. Uzman LL, Denny-Brown D — Amino-aciduria in hepato-lenticular degeneration (Wilson's disease). *Am J med Sci*, 215:599-611, 1948.
92. Victor M, Adams RD, Cole M — The acquired (non-Wilsonian) type of chronic hepatolenticular degeneration. *Medicine*, Baltimore, 44:345-396, 1965.
93. Vierling JM, Shrager R, Rumble WF, Aamodt R, Berman MD, Jones EA — Incorporation of radiocopper into ceruloplasmin in normal subjects and in patients with primary biliary cirrhosis and Wilson's disease. *Gastroenterology*, 74:652-660, 1978.
94. Voelsch M — Beitrag zur Lehre von der Pseudosklerose (Westphal-Strümpell). *Dt Z NervHeilk*, 42:335-352, 1911.
95. Vogel FS, Klemper L — Biochemical reactions of cooper with neural mitochondria, with consideration of the role of the metal in the pathogenesis of Wilson's disease. *Laborat Invest* 12:171-179, 1963.

96. Walshe JM — Disturbance of aminoacid metabolism following liver injury: a study by means of paper chromatography. *Q J Med* 22:483-505, 1953.
97. Walshe JM — Wilson's disease: new oral therapy. *Lancet* i:25-26, 1956.
98. Walshe JM — Penicillamine, a new oral therapy of Wilson's disease. *Am J Med*, 21:487-495, 1956.
99. Walshe JM — Management of penicillamine nephropathy in Wilson's disease: a new chelating agent. *Lancet*, ii:1401-1402, 1969.
100. Walshe JM — Triethylenetetramine. *Lancet* i:154, 1970.
101. Walshe JM — Wilson's (hepatolenticular degeneration). In Vinken PJ, Bruyn GW & Klawans HL: *Handbook of Clinical Neurology, Vol. 27 (Metabolic and Deficiency Diseases of the Nervous System), Part I.* North-Holland, Amsterdam, 1976, p.379-414.
102. Watson DR — Copper metabolism: report of a case of Wilson's disease. *J Am osteop Ass*, 78:588-596, 1979.
103. Westphal C — Über eine dem Bilde der cerebrospinalen grauen Degeneration ähnliche Erkrankung des centralen Nervensystems ohne anatomische Befund, nebst einigen Bemerkungen über paradoxe Contraction. *Arch Psychiat Nervenkr*, 14:87-134, 1883.
104. Wilson SAK — Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain*, 34:295-507, 1912.
105. Zimdahl WT, Hyman I, Cook ED — Metabolism of copper in hepatolenticular degeneration. *Neurology, Minneapolis*, 3:569-576, 1953.