

ENFERMEDAD DE WILSON

Experiencia acumulada en 5 años

KARL SCHOSINSKY *
ARNOLDO CAMACHO **
IVETTE GARCÍA ***
MIGUEL CHAVARRÍA *

GERMAN F. SÁENZ R. *
RODOLFO ÁLFARO **
GERMAN SÁNCHEZ ****
ELIÉCER VALENCIANO *

RESUMEN:

Se relata el hallazgo de 7 casos propósitos de Enfermedad de Wilson, con edades comprendidas entre los 7 y los 27 años. En la mayoría de los pacientes (5 casos) se hizo evidente el compromiso hepático, las más de las veces severo, y en tres de ellos hubo concomitantemente hemólisis intravascular aguda, falleciendo dos en el hospital por encefalopatía hepática a los pocos días del diagnóstico de laboratorio. En los estudios familiares se logró detectar 10 casos más, siendo 7 de ellos asintomáticos. Los estudios permiten considerar un caso como evidente producto de consanguinidad, y en otros una interesante identidad de apellidos. Se destaca en el trabajo la frecuencia y las características de presentación de la forma hepática-hemolítica de la enfermedad, y 6 casos con la presencia de anillo de Kayser-Fleischer, encontrándose en tres de ellos signos y síntomas neurológicos. Se hace énfasis en el abordaje clínico y de laboratorio integral de este padecimiento en vista del pleomorfismo fisiopatológico del mismo.

INTRODUCCION

La enfermedad de Wilson (EW), también llamada enfermedad hepatolenticular, degeneración progresiva lenticular, pseudo-esclerosis y corea tetanoide, es un desorden genético del metabolismo del cobre (Cu), resultante de un defecto en la síntesis de la ceruloplasmina sérica (CS) (63), o de la presencia de una proteína anormal con gran afinidad por el Cu (27), por lo que se le incluye entre los errores innatos del metabolismo con el carácter hereditario de rasgo autosómico recesivo (1, 41, 61).

Sternlieb y Scheinberg (70) han demostrado que la concentración de cobre hepático (CH) es significativamente mayor en pacientes asintomáticos que en aquellos con manifestaciones neurológicas, por lo que han sugerido que una desviación del Cu —inicialmente acumulado en el hígado— hacia otros tejidos es parte del progreso natural de la enfermedad. Aumenta entonces el contenido de Cu en muchos tejidos, pero en forma selectiva en los ganglios basales y la membrana de Descemet de la córnea, órganos que llegan a contener cantidades excesivas de ese metal —hasta 10 veces en el cerebro, en comparación con lo normal—, posiblemente debido a que las proteínas de esos órganos tienen una mayor afinidad por el Cu (1, 4, 23, 41, 61). El daño renal es también importante (74, 82).

Esta enfermedad se presenta usualmente en la edad pediátrica a pesar de que el diagnóstico puede no ser confirmado sino hasta la edad adulta (66). La frecuencia de la EW en la población general es de aproximadamente 1 en 200.000 personas. Debido a que únicamente una de cada 200 personas de la población general es heterocigota para el gene de la enfermedad. La

* Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

** Sección de Medicina, Hospital San Juan de Dios.

*** Sección de Medicina, Hospital Nacional de Niños.

**** Sección de Medicina, Hospital Calderón Guardia.

mayoría de los individuos afectados son el producto de matrimonios consanguíneos (82).

El cuadro pleomórfico de la EW es bien conocido (19, 20, 29, 34, 48, 57, 64, 66, 74). Esta variabilidad clínica se observa bien cuando nos enfrentamos al tipo corriente de cirrosis hepática juvenil con ictericia e hiper-gamaglobulinemia, e hipertensión portal sin evidencias de compromiso neurológico. Esta forma de la enfermedad aparece entre los 9 y 13 años, mientras los signos neurológicos usualmente se evidencian entre 2 y 5 años más tarde (30).

La EW es pues, un cuadro muy complejo, del cual forma parte una mayor absorción de Cu a nivel del tracto intestinal y una disminuída excreción biliar del mismo metal, según se ha demostrado mediante el uso de Cu radioactivo (1, 20, 57, 66); fenómenos que, por otra parte, explican la coexistencia de un aumento del Cu corporal con una mayor excreción urinaria de ese metal, ambas anomalías bioquímicas típicas de la enfermedad (1, 61, 68).

Década atrás, muchos casos de EW fueron diagnosticados solamente cuando habían aparecido signos neurológicos (30). La frecuente variedad hepática se caracteriza clínicamente por un cuadro indistinguible al de la hepatitis infecciosa, e histológicamente al de la cirrosis postnecrótica (34, 48, 57, 64, 66, 70). Es en este tipo de enfermedad hepática en donde se señala la coexistencia de anemia hemolítica intravascular, la cual puede ser aguda (20, 26, 34, 55, 57, 64, 66) y de difícil diagnóstico etiológico cuando se le interpreta en forma aislada del cuadro hepático.

La EW, usualmente se caracteriza por la presencia de un anillo pardusco o gris verdoso producto de la deposición granular de proteinato de Cu en la membrana de Descemet, que se extiende por el margen corneal con un grosor no mayor de 5 mm (6), siendo el pigmento más denso periférica que centralmente.

A esta formación pigmentaria se le conoce como anillo de Kayser-Fleischer (KF), siendo un signo patognomónico de la enfermedad, aunque no se encuentra en todos los casos (66, 74); está presente una vez que los signos neurológicos son evidentes (6). La disfunción neurológica puede llevar inicialmente a tremor, distonía o disartria. Sin embargo, la primera indicación clínica del deterioro cerebral puede ser de tipo psi-

quiátrico (29, 66). Sin tratamiento la enfermedad es mortal, no sólo por las perturbaciones neurológicas, sino también, e inclusive predominantemente, como consecuencia de la cirrosis hepática, que tiene complicaciones circulatorias, tales como ruptura de várices esofágicas e hipersplenismo y que, de producir disfunción del parénquima hepático, conduce a estados de hipocoagulabilidad por trastorno en la síntesis hepática de factores de la coagulación, entre las muchas alteraciones bioquímicas (4, 29, 61, 64, 74).

Estando íntimamente vinculados la CS y el Cu con la EW, señalamos algunas características de esta peculiar proteína y del metabolismo del Cu.

La CS es una de las varias proteínas que contienen Cu como parte de su estructura molecular. Fue aislada y caracterizada por Holmberg y Laurell (39), quienes demostraron que el 90-95% del CuS se halla unido a ella. Esta proteína es una alfa₂ globulina, estando aproximadamente el 60% de su Cu total en forma cuprosa y el remanente en forma cúprica (43). Su peso molecular es de 132.000 (46) y su contenido de Cu de 0.32 g/100 g de proteína (24, 39). La CS contiene 3 formas diferentes de Cu: 3 iones cúpricos (con resonancia electrón-magnética) dos de los cuales son responsables del intenso color azul (37), y 4 en un estado de oxidación cuprosa, que no poseen resonancia electrón paramagnética (47). La CS tiene una actividad de tipo oxidasa contra una gran variedad de compuestos polihidroxílicos y poliaminas (39). Como glicoproteína que es (38, 42) contiene 7-7.5% de carbohidrato, en forma de hexosa, hexosamina, manosa, galactosa, ácido siálico y fucosa (40). El metabolismo del Cu ha sido ampliamente revisado por Cartwright y Wintrobe (11) y Dowdy (25). La absorción de Cu en el hombre ocurre en el estómago y en la parte superior del intestino delgado. En el suero, el metal se presenta en dos formas diferentes:

a) Cu unido lábilmemente a la albúmina y posiblemente a algunos aminoácidos, que reacciona directamente con el dietildition-carbamato. A pesar de que este Cu no constituye más del 5% del total de la cupremia es una vía esencial para el transporte del mismo del tracto digestivo a los varios tejidos del cuerpo, en especial al hígado, y es asimismo la forma metabólica más activa en el suero.

- b) Cu unido firmemente a la CS (cuproenzima), constituyendo más del 95% de la cupremia, con reacción indirecta ante el reactivo de color.

El hígado es el órgano clave en la economía corporal del Cu, siendo por el árbol biliar su principal vía de excreción (80%). En lo que respecta a la dinámica metabólica del Cu, el hígado puede dividirse en 3 diferentes compartimientos: el de síntesis de la CS, el de la excreción biliar de Cu y finalmente el de depósito, siendo los 2 primeros dependientes de la carga de Cu del compartimiento de depósito.

Por el papel de la CS en el metabolismo del hierro, Osaki *et al.* (52) propusieron que se le denomine "Ferroxidasa sérica", ya que es un nombre más descriptivo para resaltar su actividad catalítica y su demostrado papel en la movilización del hierro tisular hacia el plasma (33, 53). En nuestra literatura nacional existen tres reportes sobre la presencia de EW. En dos de ellos (2,29) la variedad fue típicamente neurológica, mientras en el tercero (26), las manifestaciones clínicas fueron tanto de origen hepático como neurológico, con coexistente hemólisis intravascular.

En el presente trabajo se señala el estudio de 7 casos de EW en pacientes con edades comprendidas entre 7 y 27 años, lo mismo que a sus respectivas familias, detectándose en total 17 casos de la enfermedad. En el estudio se desea dejar claro la importancia de un diagnóstico precoz, el uso de métodos de laboratorio fidedignos y una llamada de atención acerca de los signos y síntomas que deben hacer sospechosa la presencia de una enfermedad hereditaria que, en sus manifestaciones, se caracteriza por un marcado pleomorfismo de signos y síntomas y cuya frecuencia no es insólita en nuestro medio.

Pacientes y métodos:

A) Pacientes:

En un período de 5 años (1973-1977) se estudiaron 7 pacientes que resultaron poseedores de EW, de los hospitales San Juan de Dios, Calderón Guardia y Nacional de Niños. Asimismo, se estudió un total de 100 familiares de aquellos, detectándose 10 casos más, 7 de ellos asintomáticos. Dentro de los

10 casos familiares, dos de ellos, hermanos, fueron diagnosticados gracias a la evidencia clínica que presentó otro hermano, el cual no se incluye en la presente casuística como propositus a falta de los análisis de laboratorio que confirmaron el diagnóstico.

B) Métodos:

En la gran mayoría de los casos se practicaron las siguientes determinaciones químico-clínicas y hematológicas: ceruloplasmina sérica (CS) por el método enzimático de Schosinsky *et al.* (62); cobre sérico (CuS), cobre urinario (CuU) y cobre hepático (CH) por modificaciones al método original para CuU (35). Los análisis químico-clínicos de rutina fueron: fosfatasas alcalinas, transaminasas, bilirrubinas y proteínas totales y fraccionadas. Los estudios hematológicos se realizaron de acuerdo con los procedimientos convencionales, los que salvo ligeras modificaciones, son los señalados por Dacie y Lewis (16), e incluyen hemograma completo, reticulocitos, plaquetas, tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial, haptoglobinas y pruebas para G-6-FD, estabilidad de la Hb, Hbs anormales y de Coombs.

Resultados:

En las tablas 1-4 se indican los hallazgos clínicos, bioquímicos y hematológicos de los 7 propositus todos ellos caucásicos.

Caso 1:

Paciente procedente de Siquirres, distrito central. Antecedentes familiares no contributorios.

El estudio familiar incluyó a la madre y 3 hermanos, encontrándose un caso asintomático de la enfermedad en un hermano de 9 años en el cual se relata la presencia de "hapatitis" a los 2 años de edad.

Caso 2:

Paciente procedente de Santa María de Dota. El estudio familiar comprendió a la madre y 11 hermanos. A uno de ellos se le hizo el diagnóstico de EW, quien no ha seguido tratamiento y actualmente cursa con problema psiquiátrico severo. El interrogato-

CUADRO 1

HALLAZGOS CLINICOS (a)

Caso Nº	Edad momento diagnóstico	Sexo	Edad comienzo de los síntomas	Modo de presentación
1	7 años	F	7 años	Ictericia, ascitis, edema podálico.
2	19 años	F	16 años	Ictericia conjuntival, vómitos amarillentos-verdosos, sangrado digestivo, dolor hipocondrio derecho.
3	15 años	F	15 años	ictericia en conjuntiva y piel, edema podálico y palpebral. Vómitos postprandiales, hematemesis, ascitis.
4	27 años	M	16 años	Ictericia ocasional y dificultad en coordinar movimientos.
5	19 años	M	12 años	Mareos, astenia, adinamia, amnesia progresiva, cefaleas ocasionales, ictericia y orina oscura ocasionalmente, dolores hipocondrio derecho.
6	14 años	F	14 años	Ictericia, vómitos posprandiales, astenia, adinamia, anorexia, náuseas, orinas oscuras, dolor hipocondrio derecho, irradiación al epigastrio.
7	9 años	M	9 años	Asintomático.

rio demostró que 4 familiares cercanos padecieron de "hepatitis" en años anteriores y una hermana de 23 años falleció de "hepatitis" y en la autopsia se encontró cirrosis postnecrótica.

Caso 3:

Paciente procedente de San Ignacio de Acosta. Antecedentes familiares no contributorios. El estudio familiar incluyó a la madre y 5 hermanos, dos de ellos, de 14 y 16 años resultaron con EW. En 39 parientes cercanos no se evidenció la enfermedad.

Caso 4:

Paciente de Rosario de Aserrí. Los antecedentes familiares demostraron que dos hermanos fallecieron de "ictericia", así como dos familiares cercanos; y un sobrino padece de trastornos siquiátricos. Se cita un herma-

no que falleció de EW, diagnosticado post-mortem.

Caso 5:

Paciente procedente de Rosario de Aserrí. Dentro de los antecedentes familiares se cita un hermano que padeció de "hepatitis". Una hermana y 4 primos hermanos fallecieron de "hepatitis fulminante". El estudio familiar incluyó 4 hermanos de los cuales una hermana de 18 años resultó con EW, asintomática.

Caso 6:

Paciente vecina de Desamparados. El estudio familiar incluyó a la madre y 10 hermanos, con uno de 28 años que mostró valores de CS ligeramente bajos y de CuS moderadamente altos, y otro de 22 años con EW asintomático con la forma hepática-hemolítica.

CUADRO 2

HALLAZGOS CLINICOS (b)

Caso N°	Espleno- megalia	Hepato- megalia	Várices esofágicas	Sangrado	Anillos KF	Síntomas neurológicos	Trata- miento	Curso Clínico
1	—	+	—	—	+	Electroencefalograma: anormal. Disritmia multi- focal más en regiones pos- teriores. T.h. difusas. No lateraliza ni focaliza.	Penicilamina	Favorable
2	—	+	+	Digestivo	—		Penicilamina	Favorable
3	+	+	—	Hematuria	—	Desorientada, delirio.	No recibió	Falleció a los 2 días del diagnóstico.
4	—	—	—	—	+	Dificultad en movimien- tos coordinados.	Penicilamina	Favorable
5	—	—	—	?	+	Retraso mental importante.	Penicilamina	Favorable
6	+	+	—	—	—	—	No recibió	Falleció a los 4 días del diagnóstico.
7	—	+	—	—	—	—	Penicilamina	Favorable

CUADRO 3
HALLAZGOS BIOQUIMICOS

Caso Nº	CS (U/L)	CuS (ug/dl)	CuU (ug/24 hrs)	CH (mg/100 g)	F. Alc. (U/ml)	TGP (U/ml)	TGO (U/ml)	Bilirrubinemia (mg/dl)			Prot. totales (g/dl)	Album. (g/dl)	Globul. (g/dl)
								Total	Directa	Indirecta			
1	1.9	28	237	—	4.2	125	150	—	—	—	6.3	4	2.3
2	0	29	1123	—	0.6	104	120	16.6	5.7	10.9	8	2.6	5.4
3	0	68	—	47 (autopsia)	3.5	112	215	21	16	5	7.7	2.8	4.9
4	0	20	—	—	1.28	19	16	0.5	—	—	7.8	4.1	3.7
5	0	30	193	88	4.8	64	77	0.3	—	—	7.8	3.9	3.9
6	3.5	50	400	71 (autopsia)	4.2	67	95	32	17	15	6.2	2.2	4.0
7	0	12	561	41	3.6	175	200	02	0.1	0.1	—	—	—
Normales	62 140	70-155	0-50	<6	0.7-2.7	<35	<40	1.0	0.2	0.8	6.0-8.2	3.8- 4.7	2.3- 3.5

CUADRO 4

HALLAZGOS HEMATOLOGICOS

Caso N°	Hto. (ml/dl)	Leucocitos mm ³	Plaquetas mm ³	Retis (%)	Haptoglobinas (mg/dl)	TP (%)	TPT (seg)
1	38	8.000	190.000	—	—	18	105
2	19	9.000	400.000	27	0	29	60
3	19	14.000	—	19	0	19	40
4	45	4.000	300.000	2	—	84	—
5	47	6.000	156.000	0.2	—	83	—
6	38	8.300	215.000	6.0	0	16	62
7	38	7.000	—	1.5	—	100	—

Caso 7:

Paciente originaria de Barva de Heredia, que ingresó al Hospital Nacional de Niños por interés de su madre al señalar que dos de sus hijos, de 14 y 20 años, fallecieron por trastornos hepáticos, "cirrosis" y "hepatitis", respectivamente. En el estudio familiar se diagnosticó un hermano de 5 meses con E.W.

Discusión:

En los casos que aquí se relatan salta a la luz la importancia del abordaje clínico y de laboratorio adecuado en pacientes pediátricos o adultos jóvenes con enfermedad hepática y/o alteraciones neurológicas con el fin de descartar la EW. Tenemos la certeza de que muchos casos de EW, especialmente los de variedad hepática, no se han incluido apropiadamente en nuestro medio dentro de la estadística de mortalidad y morbilidad, no sólo por ser una enfermedad relativamente rara, sino por cuanto talvez no se ha tenido en mente la posibilidad de ese diagnóstico o porque el laboratorio hace algunos años no ofrecía la tecnología que hoy se tiene a disposición, en especial los métodos para ceruloplasmina de tipo enzimático (62) y los de cupremia, cupruria y cobre tisular, que en nuestros laboratorios se hacen de rutina para casos referidos.

El pleomorfismo en que esta enfermedad se presenta debe también llamar nuestra atención.

Slovis *et al.* (66) reportan 11 casos de EW entre 11 y 18 años de edad, que son sumamente instructivos por cuanto claramente demuestran la variedad de formas de presentación de la enfermedad: hepática con o sin hemólisis concomitante; hepática con o sin anillo de KF; esplenomegalia e hiperesplenismo con pancitopenia, signos neurológicos y anillos de K.F.; variedad típicamente neurológica con anillos de KF, finalmente, casos de enfermedad hepática e ictericia con diagnóstico final de cirrosis postnecrótica. Expresan los autores que esta variabilidad de la expresión del defecto fue responsable del retardo en el diagnóstico en 6 de 7 pacientes sintomáticos. El significado de tal retraso diagnóstico se ve enfatizado por recientes reportes que señalan que el diferir el diagnóstico y el tratamiento puede afectar adversamente el pronóstico final (30, 45, 70).

A despecho de esta variabilidad de signos y síntomas, es importante indicar que al menos el 50% de los pacientes con EW inicialmente presentan manifestaciones de enfermedad hepática crónica o aguda (76, 81). En población pediátrica, a pesar de que los síntomas neurológicos no deben ser descartados, ellos quedan relegados a una segunda frecuencia (15), ya que lo usual es el compromiso hepático que por lo tanto

precede a las manifestaciones neurológicas por varios años (66). Es en este período donde el médico y el laboratorio tienen la valiosa oportunidad de hacer un diagnóstico de certeza e instituirse la terapia específica y la dieta adecuada. En nuestros casos 2, 3 y 6 con 14, 15 y 18 años respectivamente los pacientes ingresaron al hospital con trastorno hepático severo y coexistente anemia hemolítica intravascular aguda de origen oscuro. En la literatura se ha señalado (7, 59, 81) que la hemólisis intravascular es una manifestación aislada y transitoria de la EW que precede a los otros síntomas por varios años, y ello puede ser debido a que las descripciones originales de la enfermedad eran de una entidad clínica de especial interés para neurólogos y gastroenterólogos (48), no apreciándose que la manifestación clínica temprana es comúnmente una crisis hemolítica recurrente con hepatopatía.

Roche-Sicot y Benhamou (57) describen tres pacientes de 8, 13 y 15 años de edad, todos con anillos de KF, en los cuales la hemólisis no fue una manifestación aislada pues estuvo, al igual que nuestros casos, asociada con fallo hepático severo y agudo, por lo que la coexistencia de anemia hemolítica y fallo hepático agudo es una característica de la EW (9, 20, 48) y rara vez se asocia a otras enfermedades hepáticas (57). Esta asociación puede resultar por necrosis de las células hepáticas debido a la acumulación de cobre, emergiendo súbitamente hacia la circulación grandes cantidades de este metal del parénquima necrótico con daño oxidativo directo de los eritrocitos (20, 34, 55, 57, 66).

Furrer y Tönz (34) han señalado que la cirrosis en jóvenes, principalmente en conexión con proceso hemolítico, debe poner atención directa hacia EW; asimismo, el aumento de la bilirrubina directa en una crisis hemolítica debe aceptarse también como muy sospechosa de la enfermedad, obligándose a una determinación de cupruria, la cual es de mayor valor diagnóstico que la misma ceruloplasmina y el cobre sérico. En congruencia con lo anterior, muchos autores insisten en la importancia de que todos los pacientes con cirrosis hepática con o sin hemólisis, menores de 30 años, sean estudiados con el diagnóstico de EW en mente, analizándose ceruloplasmina, excreción urinaria de cobre, depósitos de cobre en biopsia hepática y búsqueda de anillo de KF.

Como en 3 pacientes de los 7 propositus la característica clínica más evidente de la

enfermedad fue el de un cuadro confuso de enfermedad hepática y síndrome hemolítico, consideramos importante hacer resaltar y reiterar algunas consideraciones al respecto. Se ha señalado (57) que la secuencia de hechos clínicos en los pacientes con fallo hepático severo y hemólisis intravascular es el siguiente: 1) período que abarca de 3 a 14 días, caracterizado por fatiga, fiebre e ictericia; 2) fase de 1 a 2 días, en que se hace evidente la crisis hemolítica y, 3) período de 2 a 6 días, en que resalta la encefalopatía hepática. En tres pacientes de Roche Sicot y Benhamou (57), la muerte ocurrió por fallo hepático entre 7 a 21 días después del comienzo de los síntomas, citándose que los tres pacientes se encontraban previamente con buena salud. La necropsia reveló cirrosis, necrosis de la célula hepática, esteatosis y cuerpos de Mallory. En nuestros casos 3 y 6, los cuales fallecieron, se puede decir que el síndrome cursó bajo semejantes características clínicas, de laboratorio e histológicas. La enfermedad hepática puede ser insidiosa y progresiva (65, 81), por lo que un diagnóstico y un tratamiento temprano pueden prevenir la consecuencia de una enfermedad hepática crónica (45, 70), e inclusive revertirla (19, 30, 55), o mejorarla sustancialmente (36). Debray *et al.* (19) citan el caso de mayor edad en la literatura (25 años) en que coexistió anemia hemolítica intravascular severa y fallo hepático. Los mismos autores señalan otro caso que cursó con severa hematemesis y franca disminución de los factores de la coagulación, a excepción del VIII.

Estas alteraciones de la coagulación han sido reportadas por diversos autores que la señalan en casos de la enfermedad con la variedad o fase hepática (19, 29, 57, 64, 66, 74) y cuya explicación es obvia dado el compromiso hepático para la síntesis de proteínas. En nuestros casos 1, 2, 3 y 6, con la forma de hepatitis Wilsoniana severa se pudo comprobar dichas alteraciones de la fase bioquímica de la coagulación a través de los valores del tiempo de protrombina. En los casos 2 y 3 —este último fallecido—, se presentó en ambos hematemesis y hematuria en el 3, sin evidencias de várices esofágicas en ninguno de los dos casos.

En la evolución de la enfermedad se observan proteinemia normal alta con hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, transaminasas ligera o moderadamente elevadas y

bilirrubinemia muy alta con franco predominio de la fracción directa y los valores de CuS no correlacionan con el valor nulo o francamente disminuído de actividad enzimática de la ceruloplasmina. Estas características bioquímicas han sido reiteradamente señaladas en la literatura (57, 66, 74). Por ejemplo, el hallazgo de proteinemia normal o alta con o sin disociación de la relación A/G y ceruloplasmina baja o nula es muy sugestivo de EW (66). Ceruloplasmina baja sin EW se puede observar en la hipoproteinemia del síndrome nefrótico, así como en la mala absorción y mala nutrición (60); rara vez en enfermedad hepática activa (80).

Niveles relativamente altos de CuS y excreción masiva de CuU se ha reportado en casos de EW con hemólisis intravascular (20, 34, 57). Contrariamente, el CuS es bajo y el CuU moderadamente incrementado en EW sin hemólisis (61), hallazgos que encuadran bien en los casos 1, 4, 5 y 7 de nuestra casuística. El fallo hepático agudo no sólo se asocia a hemólisis intravascular aguda sino que la precede, lo cual se ve soportado por la hipótesis de Deiss *et al.* (21) acerca de la historia natural de la EW, en la que luego de una progresiva acumulación de Cu en las células hepáticas habría una redistribución del metal del citoplasma a los lisosomas. En la mayoría de los pacientes dicha redistribución tomaría lugar lentamente y no tendría consecuencias clínicas. En otros pacientes, tal redistribución se haría con dificultad lo que resulta en necrosis de la célula hepática. Como resultado habría fallo hepático (con posterior cirrosis postnecrótica) y salida de Cu del parénquima lesionado hacia la circulación con la consecuente hemólisis.

El efecto del cobre plasmático, no unido a ceruloplasmina sobre el eritrocito y que causa su destrucción es muy amplio, pues el daño oxidativo de dicho metal compromete al mecanismo reductor de la Hb, enzimas, sustratos y proteínas de la membrana (34). Dentro de los trastornos específicos se citan oxidación del GSH (14,77), inhibición de la actividad de la G-6-FD (31, 50, 51), de la reductasa del glutation (50), de la hexoquinasa (14); inestabilidad de la Hb (20) daño oxidativo de la membrana por depleción de GSH (44), e inhibición de ATP de la membrana (5). A pesar de que estos de-

fectos aislados pueden ser de poca consecuencia, juntos pueden significativamente impedir la acción de los mecanismos reductores de la Hb (20). En los casos 3 y 6 no se encontraron resultados anormales para hemólisis, tales como G-6-FD, hemoglobinas anormales, estabilidad de la Hb y anticuerpos circulantes por pruebas de Coombs.

Como enfermedad hereditaria que es, el hallazgo de un paciente con EW debe obligar insoslayablemente a un estudio familiar que identifique otros casos. Se asume que hay buenas razones para tratar a los homocigotos presintomáticos que resultan de estos estudios familiares (66, 64, 70, 74). Los estudios familiares que se realizaron en esta serie permitieron detectar 10 casos más de EW, 8 de ellos asintomáticos, todos los cuales se hallan bajo tratamiento.

En 1951, Cumings (12), y Denny-Boown y Porter (22) propusieron el uso de bal,* un agente quelante que reduce los niveles de cobre tisular, el cual luego fue descontinuado por sus efectos secundarios. El mejor avance terapéutico fue dado por Walshe en 1956 (78, 79) quien recomendó el uso de otro agente quelante, la penicilamina, para la remoción del cobre en pacientes con EW. La mayoría en el pronóstico es tal que el tiempo de sobrevivencia se alarga usualmente (13, 19, 21, 30, 36, 55, 69, 71, 72). Este tratamiento también es —reiteramos— recomendado para pacientes homocigotos asintomáticos antes de que desarrollen síntomas clínicos (45, 64, 66, 70, 74, 75, 76).

La EW ha sido postulada como un defecto genético en la formación de ceruloplasmina. Si ésta es de hecho la más importante anomalía, es una hipótesis no aplicable para aquellos pacientes con EW que se han descrito con niveles normales de ceruloplasmina sérica (8, 28, 43, 56, 58). Y es más, heterocigotos sin síntomas clínicos o aumentos de cobre tisular pueden no tener ceruloplasmina en su suero (64). También se han señalado pacientes normales con ceruloplasmina baja (10).

Por otra parte, la teoría acerca de la presencia de una proteína anormal con alta afinidad por el cobre (3) es controversial,

(*) bal: 2,3-dimercaptopropanol (dimercaprol)

toda vez que estudios con radio-cobre en EW demuestran que es lenta la depuración sanguínea del isótopo inyectado cuando lo que se esperaría sería más bien una caída rápida si en realidad la proteína tisular anormal tuviera esa afinidad alterada hacia el cobre. En dos condiciones más se han reportado niveles disminuidos de ceruloplasmina sérica. Una de ellas es el síndrome de Menkes (49), el cual es una enfermedad hereditaria ligada al sexo, recesiva, caracterizada por trastornos en la movilización del cobre a nivel de la mucosa intestinal, daño cerebral y cerebelar progresivo, pelo peculiar y muerte antes de los 3 años de edad. El síndrome es complejo y en la literatura se pueden encontrar mayores detalles (17, 18).

Fischer y Sherlock (32), citan la otra rara condición familiar que se caracteriza por una forma atípica de acumulación de cobre, con cirrosis, aumento del cobre hepático y sin anillo de KF o aumento del cobre urinario.

El aspecto relacionado con las variaciones de la ceruloplasmina sérica tanto en homocigotos como en heterocigotos, debemos verla a la luz de los métodos que se utilizan para medirla. Uno de los autores del presente trabajo (K.S.) ha comprobado que reportes bajos de ceruloplasmina en nuestro medio por procedimientos no enzimáticos han sido de cero unidades por el método enzimológico. Asimismo, en los diferentes estudios familiares que se efectuaron en el presente trabajo se han detectado familiares asintomáticos cercanos de los propósitos con valores de ceruloplasmina ligeramente bajos, algunos de ellos con cupruria ligeramente elevada, por lo que se cree importante realizar biopsia hepática y/o balance del metal con Cu^{64} , tal y como lo recomiendan algunos autores (30, 51, 54, 64), con el fin de esclarecer con certeza la presencia o no de enfermedad, dado que como lo expresa Sherlock (64), la EW puede ser genéticamente heterocigota así como pueden haber diferentes tipos clínicos y bioquímicos. En los casos en que se practicó biopsia hepática (5 y 7) se encontraron valores de Cu-tisular de 88 y 41 mg/100 g, y en dos necropsias (casos 3 y 6), las cantidades de Cu hepático fueron de 47 y 71 mg/100 g de peso seco. En estos 4 ejemplos se observa la enorme sobrecarga de Cu-tisular si observamos que los valores hepáticos máximos son de 6 mg/100 g, de acuerdo con nuestros

estudios, los cuales son muy semejantes a los encontrados en la literatura (57, 73).

Debe tenerse en mente que en otras enfermedades hepáticas, como en cirrosis biliar y en la obstrucción del ducto biliar de larga duración, se pueden encontrar altas concentraciones del cobre hepático (67), probablemente por interferencia del mecanismo de excreción biliar. Finalmente, señalamos la presencia de anillo de KF en tres casos de los propositus (1, 4 y 5) y en tres de los 10 casos familiares. Esta formación anormal se considera característica de la enfermedad y virtualmente presente en todos los casos sintomáticos (64), a pesar de otros reportes (66,74). En todo caso bueno es indicar que la búsqueda del anillo de KF debe hacerla un experto y con el uso de una lámpara de hendidura (64). El hallazgo de esplenomegalia con o sin hiperesplenismo en EW no es infrecuente (19, 26, 29, 30, 66) y se ha citado hasta en un 50% de los casos (74). En nuestra casuística, clínicamente se observó esplenomegalia en los propositus 3 y 6, precisamente ambos con la forma hepatítica-hemolítica y que fallecieron, y en dos casos interfamiliares.

Conclusiones:

Las características clínicas y de laboratorio más sobresalientes de los 17 casos de EW (siete propositus y 10 familiares) fueron:

- a) Las edades (al momento del diagnóstico) oscilaron entre 5 meses a 27 años.
- b) No se observó diferencia de sexo en la casuística estudiada.
- c) Ocho (47%) fueron asintomáticos al momento del diagnóstico.
- ch) Ocho (47%) presentaron ictericia en alguna etapa de la evolución de la enfermedad.
- d) Seis (35%) presentaron anillos de K.F.
- e) Cuatro (24%) ingresaron al hospital con trastorno hepático severo y coexistente anemia hemolítica intravascular de difícil diagnóstico etiopatológico.
- f) Seis (35%) mostraron hepatomegalia, dos (12%) esplenomegalia y dos (12%) hepatoesplenomegalia.

- g) A todos los pacientes que se les analizó CS, CuS, CuU y CuH mostraron niveles bajos de CS y niveles elevados de CuS, CuU y CuH, excepto en el paciente de 5 meses que mostró niveles normales de CuU.
- h) Ocho pacientes (47%) mostraron tiempos de protrombina menores de 67%.
- i) Se demuestra la importancia de investigar EW en pacientes jóvenes con enfermedad hepática y/o hemólisis así como en aumentos de bilirrubina directa en crisis hemolítica.
- j) Queda evidente la importancia del perfil de análisis de laboratorio para el diagnóstico de la EW (CS, CuS, CuU, CuH, T.P.) y pruebas por hemólisis.

Agradecimiento:

Los autores deseamos dejar constancia de nuestro profundo agradecimiento al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) por haber patrocinado parte de la presente investigación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ADELSTEIN, S.J. and VALLEE, B.L.:
Copper metabolism in man. *New Eng. J. Med.* 265: 892-897 y 941-946, 1961.
- 2.—ANTILLON, A. y AGUILAR, J.E.:
Degeneración hepatolenticular de Wilson, reporte del 1er. caso en Costa Rica. *Acta Méd. Cost.* 3: 19-22, 1970.
- 3.—BEARN, A.G. and KUNKEL, H.G.:
Localization of Cu⁶⁴ in serum fractions following oral administration: an alteration in Wilson's Disease. *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.* 85: 44-48, 1954.
- 4.—BEESON, B. y McDERMOTT, W. Editores:
Tratado de Medicina Interna de Cecil Loeb. XXXIV + 1856 pp., II ed. en español, Editorial Interamericana, S.A., México, 1968.
- 5.—BOWDER, K., DUNCAN, C.J.:
The effect of copper on membrane enzymes. *Biochim. Biophys. Acta.* 196: 116-119, 1970.
- 6.—CAIRNS, J.E. and WALSHE, J.M.:
The Kayser Fleischer Ring. *Trans. Ophthalmol. Soc. U.K.* 90: 187-190, 1970.
- 7.—CARR-SAUNDERS, E., LAURENCE, B.M.:
Wilson's disease presenting as an acute haemolytic anaemia. *Proc. Roy Soc. Med.* 58: 614-615, 1965.
- 8.—CARRICO, R.J. and DEUTSCH, H.F.:
Some properties of ceruloplasmin from patients with Wilson's disease. *Biochem. Med.* 3: 117-129, 1969.
- 9.—CARTWRIGHT, G.E., HODGES, R.E., GUBLER, C.J. *et al.*:
Studies on copper metabolism. XIII. Hepatolenticular degeneration. *J. Clin. Invest.* 33: 1487-1501, 1954.
- 10.—CARTWRIGHT, G.E., MARKOWITZ, H., SHIELDS, G.S., and WINTROBE, M.M.:
Studies of copper metabolism XXIX. A critical analysis of serum copper and ceruloplasmin concentrations in normal subjects, patients with Wilson's Disease and relatives of patients with Wilson's disease. *Am. J. Med.* 28: 555-563, 1960.
- 11.—CARTWRIGHT, G.E. and WINTROBE, M.M.:
Copper metabolism in normal subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 14: 224-232, 1964.
- 12.—CUMINGS, J.N.:
Effects of BAL in hepatolenticular degeneration. *Brain*, 74: 10, 1951.
- 13.—CUMINGS, J.N.:
Trace metals in the brain and in Wilson's disease. *J. Clin. Path.*, 21: 1, 1968.
- 14.—CZLONKOWSKA, ANNA:
A study of haemolysis in Wilson's Disease. *J. Neurol. Sci.* 16: 303-314, 1972.
- 15.—CHALMERS, T., IBER, F., and UZMAN, L.:
Hepatolenticular degeneration (Wilson's Disease) as a form of idiopathic cirrhosis. *New Wng. J. Med.* 256: 235, 1957.
- 16.—DACIE, J.V., and LEWIS, S.M.:
Practical hematology 3rd. Ed. VI, pp. 435, J. & A. Churchill Ltd., London, 1963.
- 17.—DANKS, D.M., CARTWRIGHT, E. and STEVENS, B.J.:
Menkes' steely-hair (kinky-hair) disease. *Lancet* 1: 891, 1973.
- 18.—DANKS, D.M., CARTWRIGHT, E., STEVENS, B.J., and TOWNLYE, R.R.W.:
Menke's kinky hair disease. Further definition of the defect in copper transport. *Science* 179: 1140-1142, 1973.
- 19.—DEBRAY, J., KRULIK, M., BLANCHON, R. et Dupuis, J.:
Les désordres hématologiques au cours de la maladie de Wilson (à propos de 2 observations personnelles). *Ann. Méd. Interne, Juin juillet*, 122: 737-742, 1971.
- 20.—DEISS, A., LEE, G.R. and CARTWRIGHT, G.E.:
Hemolytic anemia in Wilson's Disease. *Ann. Intern. Med.* 73: 413-418, 1970.
- 21.—DEISS, A., LYNCH, R.E., LEE, G.R. and CARTWRIGHT, G.E.:
Long term therapy of Wilson's disease. *Ann. Intern. Med.* 75: 57, 1971.
- 22.—DENNY-BROWN, D. and PORTER, H.:
Effect of BAL (2,3-dimercaptopropanol) on hepatolenticular degeneration (Wilson's Disease). *New Eng. J. Med.* 245: 917, 1951.

- 23.—DENNY-BROWN, D.:
sease). *New Eng. J. Med.*, 270: 1149-1156,
Hepatolenticular degeneration (Wilson's Di-
1964.
- 24.—DEUTSCH, H.F.:
Crystalline human ceruloplasmin. In Law,
J.H., ed., *Biochemical preparation* 11: 10-14,
1961.
- 25.—DOWDY, R.P.:
Copper metabolism. *An. J. Clin. Nutr.* 22:
887-892, 1969.
- 26.—ELIZONDO, J. y SOTO, Ma. DEL MILA-
GRO:
Anemia hemolítica intravascular episódica en
un paciente con enfermedad de Wilson.
Acta Méd. Cost. 15: 25-32, 1972.
- 27.—EVANS, G.W., DUBOIS, R.S., and HAM-
BIDGE, K.M.:
Wilson's Disease: identification of an ab-
normal copper-binding protein. *Science*
181: 1175-1176, 1973.
- 28.—ENGER, E.:
Wilson's Disease. Report of a case with
normal serum ceruloplasmin level. *Acta*
Med. Scand. 163: 121-124, 1959.
- 29.—ESQUIVEL, E., JIMENEZ, J.M., GOMEZ,
M.A. y ROJAS, L.F.:
La enfermedad de Wilson. Primer caso cos-
tarricense de enfermedad de Wilson diag-
nosticado en vida mediante localización de
la ceruloplasmina en el electroferograma sé-
rico. *Rev. U.C.R.* N° 32, 1971.
- 30.—FALKMER, S., SAMUELSON, G. and
SJÖLIN, S.:
Penicillamine-induced normalization of clin-
ical signs an liver morphology and histo-
chemistry in a case of Wilson's disease.
Pediatrics 45: 260, 1970.
- 31.—FAIRBANKS, V.F.:
Copper sulfate-induced hemolytic anemia.
Arch. Intern. Med. (Chicago) 120: 428-
432, 1967.
- 32.—FISHER, M.M., and SHERLOCK, S.:
Familiar hepatic copper storage disease. A
variant of Wilson's disease. *Arch. Dis.*
Child. 39-14, 1964.
- 33.—FRIEDEN, E. and HSIEH, H.S.:
Ceruloplasmin: The copper transport protein
with essential oxidase activity. *Adv. Enzy-
mol.* 187-236 pp., 1976.
- 34.—FURRER, H.U. and TÖNZ, O.:
Acute hemolysis in Morbus Wilson. *Z.*
Kinderheilk. 118: 147-162, 1974.
- 35.—GIORGIO, A.J., CARTWRIGHT, G.E.;
WINTROBE, M.M.:
Determination of urinary copper by means
of direct extraction with zinc dibenzil di-
thiocarbamate. *Amer. J. Clin. Path.* 41: 22-
26, 1964.
- 36.—GOLDSTEIN, N.P., TAUXE, W.N.,
CcCALL, J.T., RANDALL, R.V. and
GROSS, J.B.:
Wilson's Disease (Hepatolenticular Dege-
neration). *Arch. Neurol.* 24: 391-400,
1971.
- 37.—GUNNARSON, P.O. NYLEN and PET-
TERSON, G.:
Effect of pH on electron paramagnetic-reso-
nance spectra of ceruloplasmin. *Eur. J.*
Biochem. 37: 47-50, 1973.
- 38.—HEIMBURGER, N., HEIDE, K., HAUPT,
H., and SCHULTZE, H.E.:
Bausteinanalysen von human serumproteinen.
Clin. Chim. Acta 10: 293-307, 1964.
- 39.—HOLMBERG, C.G. and LAURELL, C.B.:
Investigations in serum copper. II. Isolation
of the copper-containing protein and the
description of some of its properties. *Acta*
Chem. Scand. 2: 550-556, 1948.
- 40.—HOLTZMAN, Na.A., NAUGHTON, M.A.,
IBER, F.L. and GAUMINTZ, B.M.:
Ceruloplasmin in Wilson's Disease. *J. Clin.*
Invest. 46: 993-1002, 1967.
- 41.—HSIA, D.Y.:
Inborn errors of metabolism (Part 1, Cli-
nical Aspects). XVII + 396 pp. 2nd. ed.
Year Book, Medical Publishers Inc., Chica-
go, 1966.
- 42.—JAMIESON, G.A.:
Studies on glycoproteins. I. The carbohy-
drate portion of human ceruloplasmin. *J.*
Biol. Chem. 240: 2019-2027, 1965.
- 43.—KASPER, C.B., DEUTSCH, H.F. and BEI-
NERT, H.:
Studies on the state of copper in native and
modified human ceruloplasmin. *J. Biol.*
Chem. 238: 2338-2342, 1963.
- 44.—KOSOWER, N.S., LONG, K.R. and KO-
SOWER, E.M.:
Glutathione. IV. Intracellular oxidation and
membrane injury. *Biochim Biophys Acta*
192: 23-28, 1969.
- 45.—LEVI, A.J., SHERLOCK, S., SCHEUER,
P.J. and CUMINGS, J.N.:
Presymptomatic Wilson's disease. *Lancet*
2: 575, 1967.
- 46.—MAGDOFF-FAIRCHILD, B., LOVELL,
F. M., and LOW, B.W.:
An X-ray crystallographic study of cerulo-
plasmin. Determination of molecular weight.
J. Biol. Chem. 244: 3497-3499, 1969.
- 47.—MALKIN, R. and MALSTRÖM, B.G.:
The state and function of copper in biolo-
gical systems. In *Advances in Enzymology.*
33: 117-244, 1970.
- 48.—McINTYRE, N., CLINK, H.M., LEVI, A.J.,
CUMMINGS, J.N. & SHERLOCK, S.:
Hemolytic anaemia in Wilson's disease. *New*
Eng. J. Med. 276: 439, 1967.

- 49.—MENKES, J.H., ALTER, M., STEIGLEDER, G.K., WEAKLEY, D. R., and SUNG, J.H.:
A sex-linked recessive disorder with retardation of growth peculiar hair and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics* 29: 764-779, 1962.
- 50.—METZ, E.N.:
Mechanism of hemolysis by excess copper (abstract). *Clin. Res.* 17: 32, 1969.
- 51.—O'REILLY, S., WEBER, P.M., OSWALD, M. and SHIPLEY, L.:
Abnormalities of the Physiology of copper in Wilson's Disease. III. The excretion of copper. *Arch. Neurol.* 25: 28-32, 1971.
- 52.—OSAKI, S.:
Kinetic studies of ferrous ion oxidation with crystalline human ferroxidase (ceruloplasmin). *J. Biol. Chem.* 241: 5053-5059, 1966.
- 53.—OSAKI, S., JOHNSON, D.A. and FRIEDEN, E.:
The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. *J. Biol. Chem.* 241: 2746-2761, 1966.
- 54.—PARDO, R. y RUBIO, H.H.:
El cobre en la degeneración hepatolenticular (D.H.L.). *Acta Gastroenterol. Latinoam.* 3: 27-28, 1971.
- 55.—PASSWELL, J., COHEN, B.E., BASSAT, I.B., RAMOT, B., SHCHORY, M. and LAVI, U.:
Hemolysis in Wilson's Disease. The Role of glucose-6-phosphate dehydrogenase inhibition. *J. Med. Sci.* 6: 549-554, 1970.
- 56.—PORTER, H., SWEENEY, M. & PORTER, E.M.:
Human hepatocuprion. Isolation of a copper protein from the subcellular soluble fraction of adult human liver. *Arch. Biochem.* 105: 319, 1964.
- 57.—ROCHE-SICOT, J. and BENHAMOU, J-P.:
Acute intravascular hemolysis and acute liver failure associated as a manifestation of Wilson's Disease. *Ann. Intern. Med.* 86: 301-303. 1977.
- 58.—SCHEINBERG, I.H. & GITLIN, D.:
Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration (Wilson Disease). *Science* 116: 484, 1952.
- 59.—SCHEINBERG, I.H. and STERNLIEB, I.:
The liver in Wilson's disease. *Gastroenterology.* 37: 550-564, 1959.
- 60.—SCHEINBERG, I.H. and STERNLIEB, I.:
Wilson's disease and the concentration of ceruloplasmin in serum. *Lancet*, 1420, 1963.
- 61.—SCHEINBERG, I.H. and STERNLIEB, I.:
Wilson's disease. *Ann. Rev. Med.* 16:119-134, 1965.
62. SCHOSINSKY, K.H., LEHMANN, H.P., and BEELER, M.F.:
Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of 0-Dianisidine Dihydrochloride. *Clin. Chem.* 20: 1556-1563, 1974.
- 63.—SHASPOSHNIKOV, A.M., ZUBZITSKI, YU, N. and SHULMAN, V.S.:
Identification of ceruloplasmin in human liver cell by fluorescent antibodies and absence of this protein in Wilson's Disease. *Experientia* 25: 424-426, 1969.
- 64.—SHERLOCK, SHEILA:
Diseases of the liver and biliary system fourthed, pp. 456-468. Oxford-Edinburgh: Blackwell, 1968.
- 65.—SILVERBERG, M. and GELLIS, S.:
The liver in juvenil Wilson's disease. *Pediatrics* 30: 402, 1962.
- 66.—SLOVIS, T.L., DUBOIS, R.S., RODGERSON, D.O. and SILVERMAN, A.:
The varied manifestations of Wilson's Disease. *J. Pediat.* 78: 578-584, 1971.
- 67.—SMALLWOOD, R.A., WILLIAMS, H.A., ROSENOER, V.M. and SCHERLOCK, S.:
Liver copper levels in liver disease. Studies using neutron activation analysis. *Lancet* 2: 1310, 1968.
- 68.—STANBURY, J.B., WYNGAARDEN, J.B. and FREDRICKSON, D.S. EDITORES:
The metabolic basis of inherited disease. XXI + 1434 pp 2nd. ed. McGraw-Hill Book, Co. 1966.
- 69.—STERNLIEB, I. and SCHEINBERG, I.H.:
Penicillamine therapy for hepatolenticular degeneration. *J.A.M.A.* 189: 748, 1964.
- 70.—STERNLIEB, I. and SCHEINBERG, I.H.:
Prevention of Wilson's disease in asymptomatic patients. *New Eng. J. Med.* 278: 352, 1968.
- 71.—STERNLIEB, I. and SCHEINBERG, I.H.:
Chronic hepatitis as a first manifestation of Wilson's disease. *Ann. Int. Med.*, 76: 59, 1972.
- 72.—STRICKLAND, G.T. and LEU, M-L.:
Wilson's disease in Taiwan: General and genetic characteristics and prognosis with penicillamine therapy. Third International Congress on Wilson's Disease. Paris, 1973.
- 73.—STRICKLAND, G.T., BLACKWELL, R.Q. and WATTEN, R.H.:
Metabolic studies in Wilson's disease. Evaluation of efficacy of chlation therapy in respect to copper balance. *Amer. J. Med.* 51: 31-40, 1971.
- 74.—STRICKLAND, G.T. and LEU, M-L.:
Wilson's disease. Clinical and laboratory manifestations in 40 patients. *Med.* 54: 113-137, 1975.

- 75.—TU, J-B, COOPER, W.C. BLACKWELL, R.Q., and HOU, T-Y:
Treatment of hepatolenticular degeneration (Wilson's disease) in the asymptomatic stage. *Neurology (Minneap.)* 15: 402, 1965.
- 76.—TU, J-B, BLACKWELL, R.Q., FRESCH, J.W. and WATTEN, R.H.:
Diagnosis and treatment studies of patients in asymptomatic stage of Wilson's disease, in *Birth Defects Original Article Series: Wilson's disease Vol. 4*, ed. by Bergsma, D., Scheimberg, I.H. and Sternlieb, I., The National Foundation, New York, 1968, p. 114.
- 77.—VOEGTLIN, C., JOHNSON, J.M., ROSENTHAL, S.M.:
The oxidative catalysis of crystalline glutathione with particular reference to copper. *J. Biol. Chem.* 93: 435-453, 1931.
- 78.—WALSHE, J.M.:
Wilson's disease: new oral therapy. *Lancet* 1: 25, 1956.
- 79.—WALSHE, J.M.:
Penicillamine, a new oral therapy for Wilson's disease. *Amer. J. Med.* 21: 487, 1956.
- 80.—WALSHE, J.M. and BRIGGS, J.:
Caeruloplasmin in liver disease. A diagnostic pitfall. *Lancet*, August 11, 263-265 pp., 1962.
- 81.—WALSHE, J.M.:
Wilson's disease, the presenting symptoms. *Arch. Dis. Child.* 37: 253, 1962.
- 82.—WINTROBE, M.M., THORN, G.W., ADAMS, R.D. BRAUNWALD, E., ISSELBACHER, K.J. & PETERSDORF, R.G.:
Harrison's principles of internal medicine. 7th Ed. McGraw Hill Book Co., 1974.