

Doença de Wilson. Apresentação Peculiar em Idade Pediátrica

ANA ISABEL LOPES ¹, NUNO LOBO ANTUNES ², M.^ª JOSÉ F. PEREIRA MELO ³, AMÉLIA BATISTA ⁴

¹ Unidade de Gastrenterologia Pediátrica

² Unidade de Neurologia Pediátrica

³ Serviço de Patologia Clínica

⁴ Serviço de Anatomia Patológica. Hospital de Santa Maria

Resumo

A Doença de Wilson é a mais frequente causa específica de doença hepática crónica com início em idade pediátrica.

No entanto, neste grupo etário, o diagnóstico nem sempre é fácil, com base em critérios convencionais.

Apresenta-se um caso de apresentação clínica não usual, diagnosticado em idade bastante jovem e adicionalmente confirmado por estudo molecular. Salienta-se a potencial contribuição diagnóstica dos marcadores genéticos, sobretudo nos casos pre-sintomáticos sem história familiar.

Palavras-Chave: Doença Wilson, criança, doença metabólica hepática, genética molecular.

Summary

Wilson's disease is the most frequent specific cause of chronic liver disease with onset in childhood, and must be specifically excluded in all cases. However, in children diagnosis may be difficult, because conventional parameters, are not always present.

We describe a case recognized at young age, with nonusual presentation Potential contributory role of molecular studies (performed in the present case) in diagnosis of pre-symptomatic cases without a family history, is emphasized.

Key-Words: Wilson's disease, children, metabolic liver disease, molecular genetics.

Introdução

A doença de Wilson é a expressão de um defeito raro do metabolismo do cobre, de base autosómica recessiva, localizado no cromossoma 13 ⁽¹⁾.

Foi recentemente clonado e caracterizado a nível molecular o gene responsável, tendo já sido identificadas diversas mutações, eventualmente determinantes de variável expressão clínica ⁽²⁾.

Na criança a doença geralmente manifesta-se com evidência de lesão hepática ^(3, 4) podendo exprimir todo o espectro de doença hepática parenquimatosa, incluindo hepatite aguda ou crónica, cirrose ou insuficiência hepática fulminante.

O diagnóstico precoce, essencial pela possibilidade da terapêutica específica impedir a progressão da doença, nem sempre é fácil em idade pediátrica, sobretudo em casos esporádicos, mediante critérios convencionais ⁽⁵⁾.

Apresenta-se um caso diagnosticado em idade bastante jovem (6 anos), cujo contexto clínico na apresentação justificou investigação adicional, a qual viria a permitir o diagnóstico definitivo, confirmado mediante estudo molecular. Salienta-se a potencial contribuição diagnóstica dos marcadores genéticos, sobretudo nos casos pré-sintomáticos sem história familiar ⁽⁶⁾.

Caso Clínico

S.A.R.S., sexo feminino, raça caucasiana, é referenciada à Consulta de Gastrenterologia Pediátrica aos 6 anos, para investigação de disfunção hepática (elevação das transaminases) com cerca de 12 meses de evolução conhecida.

□ Antecedentes Familiares

Ausência de consanguinidade; pai com antecedentes de dislipidémia, recentemente internado por oclusão trombótica dos vasos carotídeos; mãe saudável (pais divor-

ciados vivendo a criança com o pai e mãe «adoptiva»); meia-irmã de 2 anos (linha materna) e 2 meio-irmãos (linha paterna) de 12 e 16 anos, aparentemente saudáveis. Desconhece-se a existência de outras doenças heredofamiliares (designadamente do foro hepático ou neurológico), nos restantes familiares em primeiro e segundo grau.

□ Antecedentes Pessoais

Irrelevantes; gestação de termo, parto eutócico, peso ao nascer – 3.200 g; sem intercorrências no período neonatal. Evolução adequada nos planos estaturponderal e psicomotor. Início de escolaridade básica aos 6 anos, com boa integração e sucesso escolar.

Doença Actual

Em aparente saúde, na sequência de rastreio tuberculínico aos 5,5 anos, é detectada «viragem tuberculínica», pelo que é instituída terapêutica anti-bacilar com isoniazida, pirazinamida e rifampicina (duração de 2 meses).

Não existindo parâmetros anteriores de função hepática, é então pela primeira vez detectada elevação das transaminases (quadro I) em avaliação laboratorial de controlo após a terapêutica tuberculostática referida.

Entretanto, cerca de 3 meses depois, surgem episódios convulsivos (3 episódios consecutivos com cerca de 15 dias de intervalo), sem factor desencadeante óbvio ou sintomatologia associados, de duração breve (1-2

minutos), caracterizados por contracções tónico-clónicas generalizadas, cedendo após a administração de diazepam intravenoso ou rectal. A criança é referida à Unidade de Neurologia Pediátrica, onde se institui medicação anti-convulsivante com valproato de sódio (Diplexil® - 500 mg/d).

Da investigação então efectuada no plano neurológico salienta-se: exame neurológico normal; electroencefalograma evidenciando alguns paroxismos sugestivos de comicialidade; TAC craneoencefálica demonstrando apenas discreta acentuação dos sulcos cerebelosos e vermianos. O restante exame físico revelou-se completamente normal (designadamente ausência de estigmas de doença hepática crónica; fígado e baço não palpáveis).

Não se podendo excluir com segurança nesta fase, a possibilidade de hepatite medicamentosa eventualmente associada a terapêutica com valproato de sódio, este fármaco é suspenso e iniciada terapêutica com carbamazepina (Tegretol® – 200 mg/d), que se manteve durante 2,5 meses. Os níveis séricos de ambos os anti-convulsivantes mantiveram-se dentro dos valores esperados (níveis terapêuticos adequados) durante a sua utilização.

Perante a persistência de transaminasemia elevada (Quadro I) é subsequentemente suspensa a terapêutica com carbamazepina, sendo referenciada a criança à Consulta de Gastreenterologia Pediátrica.

Foram efectuados testes de sensibilização linfocitária *in vitro* para ambos os anticonvulsivantes utilizados, com resultados negativos (reconhecida a priori a sua baixa sensibilidade, sobretudo se decorrido algum tempo após suspensão da medicação). Restringiu-se este estudo à

QUADRO I
Evolução Analítica (AST, ALT, γ GT)

	1993		1994				1995				1996			
	Agosto	Outubro	Março	Abril	Junho	Julho	Outubro	Março	Junho	Set.	Nov.	Junho	Dez.	
AST/ALT*	?	137/470	56/160	44/70	62/116	72/254	146/489		132/362	105/333	47/147	30/97	20/26	15/20
γ GT*			20	35		54	51		28	32	19	20	14	12
MEDICAÇÃO/ INTERCORRENCIAS	2 Meses ↔ INH RMP PZN			↑ (convulsões) Consulta Neurologia	2 Meses ↔ VAL		2,5 Meses ↔ CAR			↑ Consulta Gastro	↑ Penicilamina			

* AST N < 25 UI/L INH - isoniazida VAL - valproato de sódio
 ALT N < 29 UI/L RMP - rifampicina CAR - carbamazepina
 γ GT N < 24 UI/L PZN - pirazinamida

medicação da qual a criança pudesse ainda vir a beneficiar (potencial necessidade de manter terapêutica anticonvulsivante), pelo que os tuberculostáticos não foram incluídos.

Saliente-se que imediatamente após a suspensão da referida terapêutica anticonvulsivante e ao longo de um período de seguimento de cerca de 2,5 anos, a criança não voltou a ter quaisquer manifestações convulsivas ou outras do foro neurológico.

Nesta fase, a análise do perfil analítico evolutivo (quadro I) não sugeria de facto qualquer relação temporal entre os parâmetros de lesão hepatocelular (transaminasemia), e a medicação instituída, permitindo desde logo afastar com probabilidade a hipótese principal de hepatite medicamentosa, reconhecidamente sempre um diagnóstico de exclusão (relativa estabilização em relação aos valores iniciais apesar de medicação múltipla; agravamento espontâneo após a sua suspensão).

A investigação subsequente de outras causas potenciais de hepatopatia neste grupo etário excluiu:

- Etiologia vírica (marcadores séricos de infecção pelos vírus da hepatite B, C, CMV e EBV, PCR para o vírus da hepatite C);
- Etiologia autoimune: proteínograma sem alterações, autoanticorpos não específicos de órgão (anti-LKM, músculo liso, nuclear, mitocondrial) negativos.

Alguma investigação adicional no plano metabólico não foi igualmente contributiva (doseamento de α 1-antitripsina sérica normal; transferrina e ferritina séricas normais; amoniemia normal; cromatografia dos aminoácidos séricos e urinários sem alterações; pesquisa de succinilcetona urinária negativa).

No entanto, o estudo do metabolismo do cobre viria a demonstrar alterações bioquímicas compatíveis com doença de Wilson:

- Ceruloplasmina sérica: 0,04 g/L (N: 0,2-0,5)
- Cuprémia: 5 μ mol/L (N: 11-22)
- Cuprúria de 24h (basal) - 3,1 μ mol/L (N<1,25)
- Cuprúria de 24h após penicilamina (2x250 mg) = 32,4 μ mol/L ou 14,6 μ mol/L/vol 24 h

Não se detectou a presença de anel de Kayser-Fleischer. A biópsia hepática (Figura 1) evidenciou tecido hepático com arquitectura conservada; espaços porta com fibrose ligeira a moderada, infiltração ligeira por células mononucleadas; ausência de inflamação periportal; hepatócitos com esteatose microvesicular ligeira, de distribuição difusa; presença de raras inclusões intranucleares de glicogéneo; raros corpos acidófilos. Na coloração pela rodamina demonstrou-se um

hepatócito periportal, contendo granulações de cobre. O doseamento de cobre foi de 213,7 μ g/g de tecido hepático.

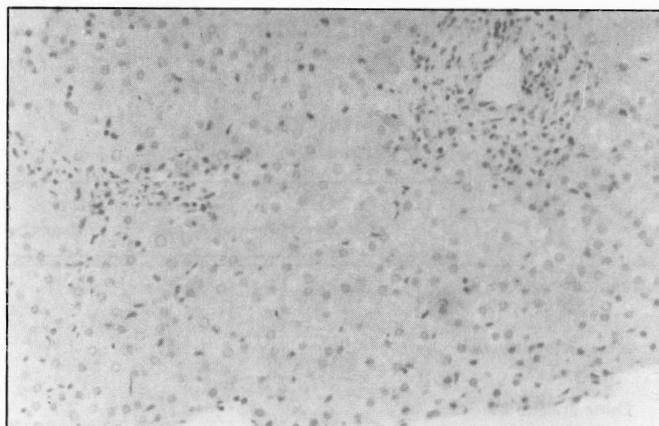


FIG. 1 - Biópsia hepática.

As alterações histológicas descritas, apesar de não específicas, foram consideradas compatíveis com doença de Wilson, podendo a pequena quantidade de cobre observada (coloração), ser devida a problemas de amostragem e ao facto de as lesões serem iniciais.

Os restantes parâmetros analíticos não evidenciaram alterações, designadamente os testes hepáticos (tempo de protrombina, proteínograma, colesterol sérico, bilirrubina total e directa) exceptuando-se a referida hipertransaminasemia e discreta elevação inicial da gamaglutamiltranspeptidase - γ GT; hemograma e parâmetros da função renal (glomerular e tubular) dentro da normalidade.

O estudo ecográfico abdominal (EcoDoppler) inicial e após 6 e 18 meses, revelou um fígado com ecoestrutura e dimensões normais e com adequado fluxo vascular; vesícula e vias biliares sem alterações; pâncreas, baço e rins igualmente sem alterações ecográficas.

Precedendo o início de terapêutica específica, foi efectuada avaliação cardiológica incluindo electrocardiograma e EcoDoppler, ambos sem alterações.

Perante critérios diagnósticos compatíveis com doença de Wilson, é instituída dieta de exclusão (alimentos ricos em cobre) e terapêutica com penicilamina, (retardada de alguns meses após o diagnóstico, por impossibilidade imediata familiar); inicialmente na posologia de 10 mg/Kg/d, atingindo-se ao fim de um mês a actual dosagem de manutenção (600 mg/d), associada a suplementação com piridoxina (25 mg 3x/semana). A par de lenta (como previsível) regressão da transaminasemia (quadro I), tem-se verificado excelente tolerância nos planos clínico e biológico, com persistência de transaminases dentro da normalidade ao longo de um período de 20 meses de seguimento após início da terapêutica.

Como parâmetros adicionais de avaliação da adesão e resposta terapêuticas, tem-se constatado uma diminuição da fração de cobre sérico livre (ainda pouco evidente a diminuição da cuprúria de 24h) relativamente aos valores pré-tratamento (quadro II).

QUADRO II
Metabolismo do Cobre

	Pré-Terapêutica	Pós-Terapêutica	
		4.º mês	18.º mês
Ceruloplasmina sérica g/L (N=0,2-0,5)	0,04	0,07	0,04
Cobre sérico µmol/L (N=11-22)	5	3,5	1,9
Cobre urinário 24h µmol/L ou µmol/vol 24h (N<1,25 µmol/L)	1,5 1,3	5,8 6,4	4,7 5
Cobre sérico livre* µmol/L	3 (>1,5)	0 (<1,5)	0 (<1,5)

* Cobre sérico livre (µmol/L) = Cobre sérico (µmol/L) - ceruloplasmina (gr/L) x 50,4 (N=0-1,5 µmol/L)

Apenas foi possível efectuar o rastreio familiar solicitado em dois dos irmãos (linha paterna), por condicionalismos familiares.

Posteriormente foi possível confirmar no caso index, mediante estudo de biologia molecular*, a presença de um alelo mutante compatível com doença de Wilson. O estudo de linkage nos irmãos demonstrou tratar-se de heterozigotos.

Comentários

A Doença de Wilson é a mais frequente causa específica de doença hepática crónica, com início em idade pediátrica⁽⁷⁾, devendo excluir-se sistematicamente neste grupo etário.

Embora se desconheça ainda exactamente qual a sua função, admite-se actualmente que o gene deficitário seja necessário ao transporte de cobre a nível intracelular e sua incorporação em proteínas de ligação⁽⁸⁾. Consequentemente a excreção biliar está reduzida, e é deficiente a sua incorporação em ceruloplasmina, condicionando acumulação hepática e eventualmente noutros tecidos.

Mais de 50% dos casos pediátricos (envolvimento hepático), ocorrem antes da puberdade, na ausência de alterações neurológicas, não tendo sido observada doença hepática sintomática antes dos 5 anos^(3, 4, 8).

Na criança, o diagnóstico nem sempre é fácil, já que a associação dos critérios diagnósticos convencionais – presença de anéis de Kayser-Fleischer (rara antes dos 7 anos), níveis baixos de cuprémia e ceruloplasmina sérica, cuprúria elevada – se verificam em apenas 25% dos casos^(8, 9, 10, 11). Por outro lado, a distribuição de cobre no tecido hepático é frequentemente heterogénea («patchy») e o seu doseamento (falível) determinado pelas características da amostra, estrutura fibrótica ou cirrótica do parênquima ou ainda, idade muito jovem (caso da criança pequena em que a sobrecarga de cobre hepático ainda é relativamente reduzida)^(8, 9, 11). Nestas circunstâncias, tem sido sugerido um maior valor discriminativo da excreção da cuprúria de 24h após penicilamina, relativamente aos testes convencionais⁽¹⁰⁾.

O caso descrito, ocorrendo em idade bastante jovem, é relativamente paradigmático de algumas das particularidades referidas da doença de Wilson na criança.

A existência de terapêutica sequencial múltipla recente, potencialmente hepatotóxica, condicionou adicionalmente alguma dificuldade diagnóstica inicial, podendo admitir-se algum papel na exacerbação ou antecipação da expressão do envolvimento hepático latente subjacente (ausência de informação sobre parâmetros de função hepática precedentes à doença actual).

Contudo, como anteriormente referido, a evolução laboratorial subsequente, permitiu afastar desde logo a hipótese de hepatite medicamentosa, para a qual constituía igualmente argumento a desfavor a ausência de significativo componente colestativo (no caso descrito verificou-se apenas ligeira elevação da γGT, no entanto sem evidência histológica de colestase) frequentemente reconhecido no perfil evolutivo da hepatite medicamentosa.

Perante a persistência inexplicada de disfunção hepática, vários meses após a cessação da referida medicação, impunha-se obviamente a exclusão de outras etiologias, e designadamente de doença de Wilson.

Apesar da ausência de anéis de Kayser-Fleischer, os restantes elementos clínicos presentes foram suficientes para estabelecer o diagnóstico, permitindo a instituição de terapêutica específica.

Na criança, o envolvimento neurológico não precede o envolvimento hepático, sendo quase uma impossibilidade nesta idade. No caso descrito, de facto, as manifestações convulsivas (sem recidiva após supressão de anti-convulsivantes e antes do início de terapêutica com penicilamina) foram atribuídas a comicialidade, não se tendo encontrado alterações estruturais específicas (imagiologia).

* Estudo em amostras de sangue periférico: **Caso index** - sequenciação parcial do gene responsável pela doença no presente caso; detecção de substituição no exão 6 (metionina → arginina), presente no estado heterozigoto; não foi reconhecida a mutação do outro alelo. **Estudo familiar**: estudo de ligação genética (linkage) por microsátélites.

As alterações patológicas hepáticas precoces da doença (reconhecidas actualmente graças ao estudo de familiares assintomáticos de casos index), incluem infiltração esteatótica dos hepatócitos, frequentemente associada a maior ou menor grau de reacção mesenquimatosa, como fibrose e ocasionalmente cirrose^(3, 4, 8). É habitual a negatividade da coloração para o cobre em estádios precoces da doença, mesmo quando a sua concentração no tecido hepático está aumentada (geralmente entre 3 a 30 vezes o normal)^(8, 9, 12). Estes aspectos foram igualmente concordantes no caso apresentado.

Embora novas alternativas terapêuticas tenham vindo a ganhar credibilidade (zinco, trientina), a penicilamina representa a mais segura e eficaz opção de primeira linha^(13, 14, 15, 16). É no entanto indispensável admitir um período de vários meses para que o seu benefício ao nível da função hepática seja manifesto. Nalguns casos, contudo, que se apresentam com insuficiência hepática aguda, o transplante hepático constitui obviamente a única alternativa possível⁽¹⁷⁾.

Recentes estudos moleculares vieram demonstrar uma grande heterogeneidade genética⁽¹⁸⁾, potencialmente determinante da expressão clínica e do prognóstico. A par desta contribuição, os estudos com marcadores de DNA trouxeram novas perspectivas diagnósticas, quer no diagnóstico pré-natal a partir de casos index, quer sobretudo, no diagnóstico de casos homocigóticos «pré-sintomáticos» e heterocigóticos^(19, 20), quando os métodos convencionais não são claramente definitivos. Nesta eventualidade incluem-se sobretudo as crianças pequenas, que não têm geralmente suficiente sobrecarga de cobre para ser detectado por métodos bioquímicos.

O estudo molecular efectuado no presente caso é compatível com heterocigotia composta, como reconhecido na maioria dos pacientes afectados, poderá vir a constituir um interessante marcador de prognóstico, bem como uma contribuição pediátrica inicial, para o conhecimento da expressão genética da doença de Wilson na população portuguesa.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Prof. M. Misrahi, Laboratoire d'Hormonologie et de Biologie Moléculaire, Centre Hospitalier de Bicêtre, Paris, France, a excelente colaboração na realização do estudo molecular.

BIBLIOGRAFIA

1. Frydman M, Bonne-Tamir B, Farrer LA, Conneally MP, Magazanik A, Ashbel S, Goldwirth Z. Assignment of the gene for Wilson's disease to chromosome 13: linkage to the esterase D locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 1819-21.
2. Thomas GR, Bull PC, Roberts EA, Walsher JM, Cpx DW. Hapotype Studies in Wilson disease. *Am J Hum Genet* 1994; 54(1): 71-8.
3. Ede RJ, Nazer J, Mowat AP, William SR. Wilson's disease: clinical presentation and use of prognostic index: *Gut* 1986; 27: 1377-81.
4. Mowat AP. Wilson's disease. In: *Liver disorders in childhood*. 2nd ed. London. Butterworths 1987; 244-55.
5. Werlin SL, Grand RJ, Perman JA, Watkins JB. Diagnostic dilemmas of Wilson's disease: diagnosis and treatment. *Pediatrics* 1978; 62: 47-51.
6. Gaffmy D, Walker JL, D'Donnell JG, Fell GS, O'Neil KF, Park RH, Russell RI. DNA-based presymptomatic diagnosis of Wilson disease. *J Inherit Metab Dis* 1992; 15(2): 161-70.
7. Teckman J, Perlmutter DH. Conceptual advances in the pathogenesis and treatment of childhood metabolic liver disease. *Gastroenterology* 1995; 108: 1263-79.
8. Danks DM. Copper and liver disease. *Eur J Pediatr* 1991; 150: 142-8.
9. Perman JA, Werlin SL, Grand RJ, Watkins JB. Laboratory measures of copper metabolism in the differentiation of chronic active hepatitis and Wilson disease in children. *J Pediatr* 1979; 94: 564-8.
10. Costa CM, Baldwin D, Portmann B, Lolin Y, Mowat AP, Mieli-Vergani G. Value of urinary copper excretion after penicillamine challenge in the diagnosis of Wilson's disease. *Hepatology* 1992; 15: 609-15.
11. Aguinaldo Cabral, Maria de Lourdes Levy, Regina Portela, Amélia Baptista, Teresa Tasso, Maria Virgínia Pais. Uma Família com Doença de Wilson. *Rev Port Ped* 1978; 9: 102-25.
12. Evans J, Newman S, Sherlock S. Liver copper levels in intrahepatic cholestasis in childhood. *Gastroenterology* 1978; 75: 875-8.
13. Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V. Wilson's disease: an update, with emphasis on new approaches to treatment. *Diag Dis* 1989; 7: 178-93.
14. Walshe JM. Diagnosis and treatment of presymptomatic Wilson's disease. *Lancet* 1988; 11: 435-7.
15. Dubois RS, Rodgerson DO, Hambidge KM. Treatment of Wilson's disease with triethylene tetramine hydrochloride (trientine). *J Pediatr gastroenterol Nutr* 1990; 10: 77-81.
16. Scheinberg IH, Jaffe ME, Sterlieb I. The use of trientine in preventing the effects of interrupting penicillamine therapy in Wilson's disease. *Lancet* 1986; 1: 845-7.
17. Mowat AP. Orthotopic liver transplantation in liver - based metabolic disorders. *Eur J Pediatr* 1992; 151(1): S32-8.
18. Howen RH, Juyn J, Ploos-vanAmstel HC, Berger R. Genotype-phenotype relations in Wilson disease NASPGN-ESPGAN Abstracts, Jerusalem, 1994. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19: n.º 3.
19. Sternlieb I. Perspectives on Wilson's disease. *Hepatology* 1990; 12: 1234-9.
20. Houwen RH. DNA - based diagnosis of Wilson Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17(1): 112-113.

Correspondência: Ana Isabel Costa Lopes
Unidade de Gastrenterologia Pediátrica
Serviço de Pediatria - Hospital de Santa Maria
Av. Prof. Egas Moniz
1600 Lisboa