

CHOROBA WILSONA

Anna CZŁONKOWSKA^{1,2} i Grażyna GROMADZKA^{1,2}

1 – Instytut Psychiatrii i Neurologii, II Klinika Neurologii

2 – Akademia Medyczna, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej,
Warszawa

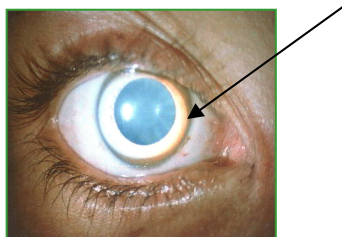
Choroba Wilsona (ChW) (OMIM #277900) czyli zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe jest rzadkim zaburzeniem metabolizmu miedzi.¹⁻³ Częstość występowania ChW w większości populacji na świecie szacuje się na ok. 1:30000. Choroba ta występuje częściej w Chinach i Japonii (1:10000), na Sardynii (1:7000), na Islandii oraz na Wyspach Kanaryjskich (1:2600).¹⁻³

Objawy kliniczne

Obraz kliniczny choroby jest bardzo różnorodny.⁴⁻⁷ Pierwsze objawy występują zwykle pomiędzy 10 a 40 rokiem życia. U 40% chorych ChW manifestuje się zaburzeniami funkcji wątroby, u 40% stwierdza się zaburzenia neurologiczne, u 15% chorych pierwszym objawem mogą być zaburzenia psychiatryczne. U 5% chorych obserwuje się zaburzenia kostno-stawowe, niewydolność nerek, spontaniczne poronienia. *Objawy uszkodzenia wątroby* mogą mieć postać zapalenia, marskości lub niewydolności. W przypadkach, w których dominuje zapalenie wątroby, nie ma żadnych charakterystycznych cech klinicznych pozwalających na odróżnienie ChW od innych zapaleń wątroby. Dlatego ChW jest często późno rozpoznawana. Objawy wątrobowe mogą być bardzo łagodne (podwyższone stężenie transaminaz we krwi) lub nasilone - z żółtaczką lub anemią hemolityczną. Może też wystąpić piorunująca niewydolność wątroby (zwykle połączona z ciężką anemią hemolityczną), która w ciągu kilku dni doprowadza do zgonu. *Objawy neurologiczne* ujawniają się zwykle później niż wątrobowe, a obejmują najczęściej: zaburzenia mowy (jeden z pierwszych objawów neurologicznych choroby), drżenie (spoczynkowe, zamiarowe, pozycyjne, drobnofaliste lub przypominające bicie skrzydłami), zaburzenia koordynacji ruchowej, zaburzenia chodu (chód parkinsonowski, często chwiejny, na szerokiej podstawie), dystonie (dystonia w zakresie mięśni twarzy powoduje, że twarz staje się hipomimiczna, z otwartymi ustami i wyciekaniem śliny), trudności w połykaniu. *Objawy psychiczne* najczęściej obejmują chwiejność emocjonalną (nagłe wybuchy złości, skłonność do płaczu, depresja), trudności z koncentracją uwagi, rzadziej ciężkie stany depresyjne, maniakalne lub psychozy schizofrenopodobne. U 50% chorych z objawami wątrobowymi oraz u niemal

wszystkich chorych z zaburzeniami neurologicznymi i psychiatrycznymi obserwuje się pomarańczowo-brunatny pierścień Kaysera-Fleishera, który jest wynikiem odkładania się miedzi w przednich warstwach rogówki oka (Ryc 1).

Ryc. 1. Pierścień Kaysera-Fleishera



Neuropatologia

ChW zalicza się do chorób „pseudozwyrodnieniowych”.⁸ W badaniach neuropatologicznych obserwuje się uszkodzenie jąder kresomózgowia, a także mózdzku i pnia mózgu. Makroskopowo, stwierdza się zanik jąder podstawy (zwłaszcza łupiny), niekiedy w łupinie obserwuje się martwicę jamistą. U ok. 10% chorych dominujące zmiany makroskopowe stwierdzano w okolicy styku kory i istoty białej podkorowej, głównie górnych i środkowych zakrętów czołowych. Zmiany polegają na obniżonej konsystencji tkanek lub na występowaniu martwicy gąbczastej. W ChW częste jest zajęcie mózdzku, ale w badaniach makroskopowych zwykle nie stwierdza się odchyleń od stanu prawidłowego.^{8,9}

W badaniach mikroskopowych obserwuje się uogólnione zmiany dotyczące wszystkich struktur szarych i białych kresomózgowia. Stwierdza się aktywację komórek mikrogleju, rozlane ubytki neuronalne, rozlane rozluźnienia podłoża oraz pola stanu gąbczastego, zwłaszcza w łupinach, jądrach zębatych mózdzku oraz na styku struktur szarych i białych. Główne odchylenia histopatologiczne obserwuje się w populacji astrocytów. Charakterystyczne dla ChW jest występowanie patologicznych form astrogleju jak: komórki Alzheimerera typu I i II oraz komórki Opalskiego.^{8,9} Występowanie patologicznych form astrogleju w ChW tłumaczy się wzrostem stężenia jonów miedzi w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Powoduje to początkowo hipertrofię i hiperplazję astrocytów ze wzmożoną produkcją metalotionein (główne białka magazynujące miedź w komórce). Gdy stężenie wolnych jonów miedzi w OUN przekroczy wartość progową, dochodzi do zmian degeneracyjnych astrogleju i rozpadu astrocytów z uwolnieniem dużych ilości wolnych jonów miedzi powodujących uszkodzenie neuronów.

Nie wyjaśniono, dlaczego wiodące zmiany histopatologiczne występują tylko w określonych strukturach OUN, pomimo nadmiernej akumulacji miedzi w całym mózgowiu. Być może

określona lokalizacja zmian histopatologicznych w OUN wynika z wrażliwości tkanek na nadmiar jonów miedzi, ze słabszych lokalnych mechanizmów obronnych lub też z dużej liczebności wiążących znaczą ilość toksycznej miedzi astrocytów protoplazmatycznych.

Diagnostyka

Nie leczona choroba Wilsona zazwyczaj prowadzi w ciągu kilku lat do zgonu. Wczesne rozpoznanie i leczenie choroby Wilsona w większości przypadków pozwala zapobiec uszkodzeniu narządów spowodowanemu nadmierną kumulacją miedzi.

Z powodu różnorodności objawów klinicznych, rozpoznanie choroby Wilsona powinno być poparte wynikami badań laboratoryjnych. Podstawowym badaniem jest oznaczenie stężenia ceruloplazminy (obniżone) i miedzi (obniżone) we krwi oraz określenie dobowego wydalania miedzi z moczem (podwyższone). Bardziej czułym testem diagnostycznym jest badanie czynnościowe z miedzią radioaktywną, które pozwala na ocenę zdolności wbudowywania miedzi do ceruloplazminy. Istotne znaczenie w diagnostyce choroby Wilsona mają badania genetyczne, których celem jest identyfikacja mutacji w genie *ATP7B*.¹⁰

Leczenie

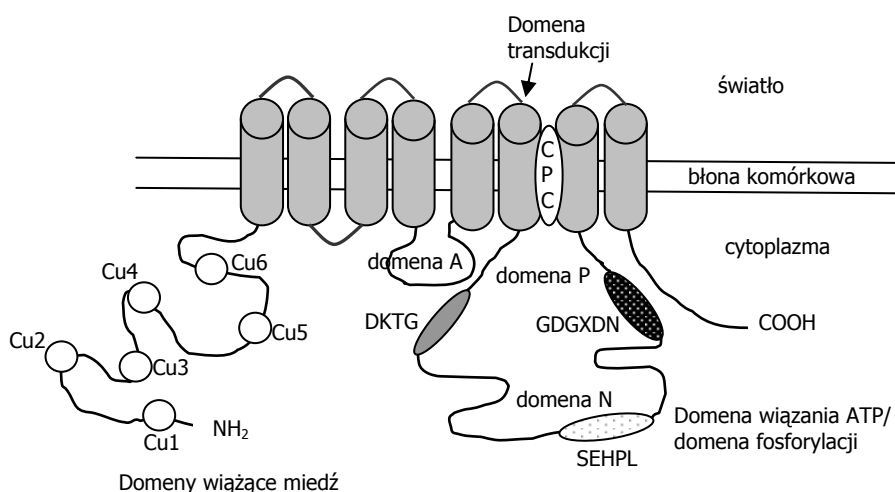
Celem leczenia stosowanego w tej chorobie jest usunięcie nadmiaru miedzi zdeponowanej w tkankach i zapobieganie reakumulacji miedzi. Obecnie w leczeniu choroby Wilsona stosuje się substancje, które wiążą miedź i powodują jej wydalanie z moczem lub związki chemiczne, które ułatwiają jej wydalanie z kałem. Są to sole cynku oraz preparaty chelatujące miedź: D-penicylamina (w Polsce Cuprenil), trójetylenotetramina oraz związki blokujące wchłanianie miedzi z przewodu pokarmowego: sole cynku (w Polsce siarczany: Zincteral). Lekiem drugiego rzutu jest tetratiomolibden.^{4-6,11} W większości przypadków leczenie jest skuteczne. Jednak nie u wszystkich chorych obserwuje się jednakowo dobrą odpowiedź na leczenie. U części chorych występują efekty niepożądane przy stosowaniu poszczególnych leków.¹¹ Często trudno określić przyczynę niepowodzeń terapeutycznych. Można przypuszczać, że istotną rolę w modyfikacji odpowiedzi na leczenie może odgrywać czynnik genetyczny.

Etiopatogeneza

Wystąpienie choroby jest spowodowane zaburzeniami funkcji ATP-azy7B (OMIM *606882). ATP-aza7B należy do grupy ATP-az typu P. Ważnymi strukturami białka ATP-azy7B są: domena wiążąca ATP, region fosforylacji, domena transdukcji, a także sześć regionów

wiążących miedź na N-końcu cząsteczki, motyw CPC w regionie wewnątrz błonowym (zaangażowany w transport miedzi przez błonę komórkową), konserwatywna sekwencja aminokwasów SEHPL obecna w dużej pętli cytoplazmatycznej ATP-azy7B i osiem segmentów przezbłonowych (Ryc. 2).¹²⁻¹⁴

Ryc. 2. Schemat budowy ATP-azy7B



Najważniejsze struktury ATP-azy7B to: 1) sześć domen wiążących miedź, 2) domena wiązania ATP (składa się z dwóch domen: domeny fosforylacji (domena P) zawierająca sekwencję DKTG (tu dochodzi do hydrolizy ATP) i domena wiązania nukleotydów (domena N) (zaangażowana w wiązanie ATP), 3) domena A (domena ważna dla aktywności fosfatazy i zmian konformacyjnych w czasie cyklu katalitycznego), 4) domena transdukcji; motyw CPC w regionie przezbłonowym jest zaangażowany w przenoszenie miedzi przez błonę komórkową; motyw SEHPL prawdopodobnie wpływa na aktywność ATP-azy i fosforylację białka; region GDGXDN – łączy domenę wiązania ATP z segmentem przezbłonowym

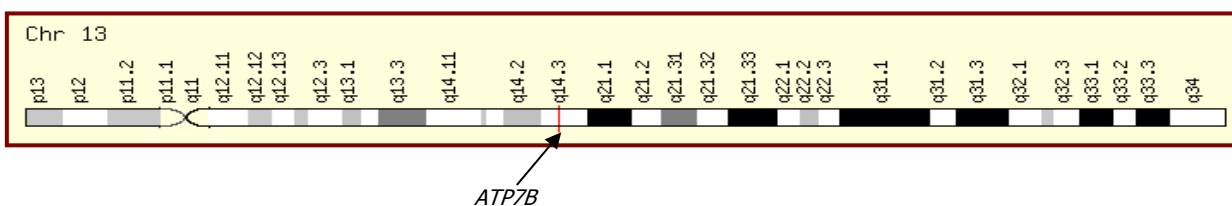
ATP-aza7B to enzym błonowy, obecny głównie w hepatocytach. Fizjologiczną funkcją ATP-azy7B jest aktywny transport miedzi w komórkach wątrobowych.¹⁴⁻¹⁸ Zmiany w strukturze białka i zmniejszenie jego aktywności enzymatycznej są związane z upośledzeniem transportu miedzi, zahamowaniem wiązania się miedzi do apoceruloplazminy w komórkach wątroby oraz z zaburzeniem wydalania miedzi z żółcią drogą jelitową. Prowadzi to do patologicznego gromadzenia się miedzi w wątrobie. Po przekroczeniu progu wydolności komórek wątrobowych dochodzi do masywnego przechodzenia jonów miedzi do przestrzeni międzykomórkowej z następnym rozkładem hepatocytów. Po przekroczeniu punktu krytycznego wolne jony miedzi dostają się do krwiobiegu, gdzie znaczna ich ilość jest luźno związana z albuminami jako tzw. „wolna miedź”. W tej postaci jony miedzi mogą dostawać się i gromadzić w różnych narządach, m.in. w mózgu, nerkach czy rogówce.^{1,2,15-18}

Genetyka

Choroba Wilsona należy do chorób uwarunkowanych genetycznie, charakteryzuje się dziedziczeniem autosomalnym recesywnym.¹⁻³

Za wystąpienie choroby odpowiedzialne są mutacje w genie *ATP7B* kodującym ATP-azę7B. Gen ten, złożony z 21 eksonów, zlokalizowano na długim ramieniu chromosomu 13 (13q14.3).^{12,13,19,20}

Ryc. 3. Lokalizacja genu *ATP7B* (<http://bioinfo.weizmann.ac.il/cards-bin/carddisp?ATP7B&search=ATP7B&suff=txt>)



Dotychczas opisano ponad 250 mutacji w *ATP7B*.²¹ Są to mutacje punktowe typu missens i nonsens, a także delecje, duplikacje, insercje. Poszczególne mutacje występują z różną częstością w poszczególnych regionach świata. W Polsce najczęściej (72% alleli) występuje mutacja c.3207C>A zlokalizowana w eksonie 14 genu *ATP7B*.²² Mutację tę z wysoką częstością obserwowano także w innych krajach Europy (Niemcy,²³ Rosja,²⁴ Austria,²⁵ Węgry,²⁶ Grecja,²⁷ Szwecja,²⁸ Dania,²⁹ Anglia³⁰). Wystąpienie mutacji c.3207C>A prowadzi do zamiany histydyny na glutaminę w pozycji 1069 łańcucha białkowego ATP-azy7B (p.H1069Q), w regionie kodującym konserwatywny motyw sekwencji aminokwasów SEHPL.³¹

Z powodu dużej różnorodności mutacji w genie *ATP7B*, a także dużej różnorodności fenotypowej w ChW, podjęto próby analiz mających na celu ustalenie, czy na podstawie genotypu można wnioskować o fenotypie choroby. Analizowano wpływ genotypu na nasilenie zaburzeń metabolizmu miedzi, wiek wystąpienia pierwszych objawów i postać choroby.

W analizie porównawczej fenotypu ChW u osób – nosicieli mutacji p.H1069Q (w postaci homo- lub heterozygotycznej) oraz u chorych posiadających inne mutacje w *ATP7B* ustalono, że mutacja p.H1069Q (zarówno w postaci homo- jak i heterozygotycznej) jest związana z istotnie mniejszym nasileniem zaburzeń w metabolizmie miedzi, a także z późniejszym wystąpieniem pierwszych klinicznych objawów ChW, w porównaniu z innymi mutacjami. W niektórych badaniach stwierdzono, że u homozygot p/H1069Q/p.H1069Q częściej występuje neurologiczna postać ChW.³¹

Przypuszcza się, że wystąpienie ChW u osób homozygotycznych pod względem mutacji p.H1069Q jest spowodowane defektem w obróbce ATP-azy7B i jej przyspieszoną degradacją.

Ustalono, że białko, kodowane przez prawidłowy gen *ATP7B*, jest zlokalizowane w obrębie aparatu Golgiego, a w warunkach wysokiego stężenia miedzi w komórce ulega translokacji do lizosomów, które przenoszą miedź do kanalików żółciowych. Białko kodowane przez gen z mutacją p.H1069Q było zlokalizowane w retikulum endoplazmatycznym i miało 5-krotnie krótszy okres półtrwania niż białko prawidłowe. Mutacja p.H1069Q upośledzała zależne od stężenia miedzi przemieszczanie się ATP-azy w warunkach wysokiego stężenia miedzi.^{32,33} Wyniki badań doświadczalnych wskazują jednak, że mutacja p.H1069Q tylko częściowo zaburza funkcje ATP-azy7B. W badaniach przeprowadzonych na szczepie *Saccharomyces cerevisiae* pozbawionym genu dla *Ccc2p* (ATP-aza typu P drożdży, homologiczna do ludzkiego białka ATP-azy7B) stwierdzono, że mutacja p.H1069Q tylko nieznacznie zmniejsza zdolność ludzkiej ATP-azy7B do komplementacji funkcji *Ccc2p*.³⁴ Spostrzeżenie to tłumaczy słaby efekt fenotypowy tej mutacji w populacji ludzkiej.

Wyniki analiz związku genotypu z fenotypem, dotyczących innych mutacji niż p.H1069Q, nie są tak jasne. Ponieważ ChW jest rzadka, a poszczególne mutacje występują w poszczególnych populacjach z niską częstością (rzadko w postaci homozygotycznej), przeprowadzenie analiz związku genotyp – fenotyp jest trudne.

Dlatego podjęto próbę analizy rodzaju mutacji w *ATP7B*, klasyfikowanych w zależności od przewidywanego efektu na funkcje ATP-azy7B. Przypuszczano, że mutacje zmiany ramki odczytu, czy mutacje nonsensowne mogą powodować ciężkie zaburzenia funkcji tego enzymu i tym samym ciężki fenotyp choroby. Jednakże niektórzy autorzy opisywali zarówno wczesne jak i późne występowanie pierwszych objawów ChW u nosicieli „ciężkich” mutacji. Na przykład wśród chorych z Islandii, jeden pacjent posiadający mutację c.2007del17 zmarł z powodu piorunującej niewydolności wątroby w wieku 16 lat, zaś u innych chorych z tą samą mutacją występowała ChW o późnym początku z dominacją objawów neurologicznych.³⁵ W badaniu przeprowadzonym w populacji japońskiej nie stwierdzono żadnego związku mutacji c.1708-5T-G i c.2871delC z fenotypem ChW.³⁶ Również w badaniu Angiusa i wsp. heterozygotyczność pod względem dwóch mutacji zmiany ramki odczytu: c.2299insC i c.214delAT nie wyjaśniała ciężkości fenotypu choroby.³⁷ W badaniu przeprowadzonym na populacji greckiej, u chorych – homozygotycznych nosicieli jednej z 3 „ciężkich” mutacji (p.L936X, p.Q289X i c.2530delA) – zanotowano wcześniejsze wystąpienie objawów ChW i niższe stężenie ceruloplazminy w surowicy w porównaniu z chorymi posiadającymi dwie mutacje missense.³⁸

Również efekt mutacji missense nie został jednoznacznie ustalony. W jednym z badań mutacja p.V1106I występowała w postaci homozygotycznej u dwóch chorych z późnym wystąpieniem choroby. Ale mutacja p.Arg778Leu była związana z wczesną manifestacją kliniczną z przewagą objawów wątrobowych.³⁹ Także cztery inne mutacje (p.Glu110Ter,

p.Ser1363Phe, p.Cys1104Phe i p.Val1262Phe) były związane z wczesną manifestacją objawów (w wieku od 9 do 12 lat) neurologicznych lub wątrobowych.⁴⁰ W niektórych badaniach nie stwierdzano żadnego związku pomiędzy typem mutacji, a klinicznym fenotypem ChW.^{21,26,41}

W analizie polskich chorych z ChW stwierdzono, że „ciężkie” mutacje są związane z istotnie bardziej zaburzonym metabolizmem miedzi, a także z wcześniejszym wystąpieniem pierwszych objawów ChW. Obserwowany efekt był zależny od dawki genu zawierającego „ciężką” mutację. Nie stwierdzono wpływu rodzaju mutacji w *ATP7B* na postać pierwotnej manifestacji choroby (dane nie publikowane).

Ponieważ zaobserwowano dużą zmienność w efekcie fenotypowym mutacji missense, przeprowadzono analizę związku lokalizacji mutacji missense w eksonach *ATP7B* kodujących poszczególne struktury ATP-azy7B z fenotypem choroby. Porównywano fenotyp ChW pomiędzy 3 grupami chorych: 1 - posiadających dwie mutacje w eksonach kodujących regiony wiązania ATP (rATP), 2 – mających dwie mutacje w obrębie eksonów kodujących regiony transbłonowe (Tb), 3 – z jedną mutacją w rATP i jedną w Tm. Stwierdzono, że najcięższy fenotyp choroby (najbardziej zaburzony metabolizm miedzi, najwcześniejszy wiek wystąpienia pierwszych objawów) występuje u osób – nosicieli mutacji zlokalizowanych w obrębie eksonów kodujących regiony przezbłonowe ATP-azy7B. U osób posiadających dwie mutacje zlokalizowane w obrębie eksonów kodujących struktury regionu wiązania ATP fenotyp ChW był najlżejszy.

Pomimo obserwowanych zależności genotypowo-fenotypowych, we wszystkich analizach stwierdzano dużą zmienność fenotypu choroby wśród osób posiadających ten sam rodzaj mutacji. Przypuszcza się, że zmienność fenotypowa w ChW jest w dużym stopniu spowodowana oddziaływaniem innych czynników modyfikujących, wśród których wymienia się między innymi: spożycie miedzi z dietą, aktywność mechanizmów antyoksydacyjnych, aktywność innych białek uczestniczących w metabolizmie miedzi.^{3,7}

Piśmiennictwo

Piśmiennictwo:

1. Gollan JL, Gollan TJ. Wilson disease in 1998: genetic, diagnostic and therapeutic aspects. *J Hepatol* 1998;28:28-36.
2. Gitlin JD. Wilson disease. *Gastroenterology* 2003;125:1868-1877.
3. Ferenci P, Caca K, Loudianos G i wsp. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int* 2003;23:139-142.
4. Najda J, Stella-Holowiecka B, Machalski M i wsp. Current principles of Wilson's disease diagnosis and treatment. *Wiad Lek* 2002;55:600-607.
5. Seniów J, Członkowska A. Choroba Wilsona. W: „Otepienie” red. Szczudlik A, Liberski PP, Barcikowska M. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2004, s: 433-437.

6. Subramanian I, Vanek ZF, Bronstein JM. Diagnosis and treatment of Wilson's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2002;2:317-323.
7. Riordan SM, Williams R. The Wilson's disease gene and phenotypic diversity. *J Hepatol* 2001;34:165-171.
8. Członkowska A, Bertrand E, Mossakowski MJ. Choroba Wilsona. W: „Neurodegeneracje” tom II, red. Liberski PP, Mossakowski MJ. PAN, Warszawa 2003;104-108.
9. Bertrand E, Lewandowski E, Szpak GM i wsp. Neuropathological analysis of pathological forms of astroglia in Wilson's disease. *Folia Neuropathol* 2001;39:73-79.
10. Członkowska A, Galewicz A, Rodo M i wsp. Observations on copper metabolism in Wilson's Disease. *Acta Univ Carol* 1973;55/57:175-177.
11. Członkowska A, Gajda J, Rodo M. Effects of long treatment In Wilson's disease with d-penicillamine and zinc sulphate. *J Neurol* 1996;243:269-273.
12. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM i wsp. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat Genet* 1993;5:327-337.
13. Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I i wsp.. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;5:344-350.
14. Terada K, Schilsky ML, Miura N i wsp. ATP7B (WND) protein. *Int J Biochem Cell Biol* 1998;30:1063-1067.
15. Sarkar B. Copper transport and its defect in Wilson disease: characterization of the copper-binding domain of Wilson disease ATPase. *J Inorg Biochem* 2000;79:187-91.
16. Fatemi N, Sarkar B. Molecular mechanism of copper transport in Wilson disease. *Environ Health Perspect* 2002;110 Suppl 5:695-698.
17. DiDonato M, Narindrasorasak S, Sarkar B. Expression, purification, and metal binding characteristics of the putative copper binding domain from the Wilson disease copper transporting ATPase (ATP7B). *Adv Exp Med Biol* 1999;448:165-173.
18. Fatemi N, Sarkar B. Structural and functional insights of Wilson disease copper-transporting ATPase. *J Bioenerg Biomembr* 2002;34:339-349.
19. Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA i wsp. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences. *Nat Genet* 1995;9:210-217.
20. Petrukhin K, Lutsenko S, Chernov I i wsp. Characterization of the Wilson disease gene encoding a P-type copper transporting ATPase: genomic organization, alternative splicing, and structure/function predictions. *Hum Mol Genet* 1994;39:1647-1656.
21. Shah AB, Chernov I, Zhang HT i wsp. Identification and analysis of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B): population frequencies, genotype-phenotype correlation, and functional analyzes. *Am J Hum Genet* 1997;61:317-328.
22. Członkowska A, Rodo M, Gajda J i wsp. Very high frequency of the His1069Gln mutation In Polish Wilson disease patients. *J Neurol* 1997;244:591-599.
23. Caca K, Ferenci P, Kuhn HJ i wsp. High prevalence of the H1069Q mutation in East German patients with Wilson disease: rapid detection of mutations by limited sequencing and phenotype-genotype analysis. *J Hepatol* 2001;35:575-581.
24. Ivanova-Smolenskaya IA, Ovchinnikov IV, Karabanov AV i wsp. The His1069Gln mutation in the ATP7B gene in Russian patients with Wilson disease. *J Med Genet* 1999; 36:174.
25. Maier-Dobersberger T, Ferenci P, Polli C i wsp. Detection of the His1069Gln mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1997;127:21-26.
26. Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F i wsp. Common mutations of ATP7B in Wilson disease patients from Hungary. *Am J Med Genet* 2002;108:23-28.
27. Loudianos G, Lovicu M, Solinas P i wsp. Delineation of the spectrum of Wilson disease mutations in the Greek population and the identification of six novel mutations. *Genet Test* 2000;4:399-402.
28. Waldenstrom E, Lagerkvist A, Dahlman T i wsp. Efficient detection of mutations in Wilson disease by manifold sequencing. *Genomics* 1996;37:303-309.

29. Stapelbroek JM, Bollen CW, Ploos van Amstel JK et al. The H1069Q mutation in ATP7B is associated with late and neurologic presentation in Wilson disease: results of a meta-analysis. *J Hepatol* 2004;41:758-763.
30. Curtis D, Durkie M, Balac (Morris) P i wsp. A study of Wilson disease mutations in Britain. *Hum Mutat* 1999;14:304-311.
31. Stapelbroek JM, Bollen CW, Ploos van Amstel JK i wsp. The H1069Q mutation in ATP7B is associated with late and neurologic presentation in Wilson disease: results of a meta-analysis. *J Hepatol* 2004;41:758-763.
32. Tsivkovskii R, Efremov RG, Lutsenko S. The role of the invariant His-1069 in folding and function of the Wilson's disease protein, the human copper-transporting ATPase ATP7B. *J Biol Chem* 2003;278:13302-13308.
33. Payne AS, Kelly EJ, Gitlin JD. Functional expression of the Wilson disease protein reveals mislocalization and impaired copper-dependent trafficking of the common H1069Q mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10854-10859.
34. Iida M, Terada K, Sambongi Y i wsp. Analysis of functional domains of Wilson disease protein (ATP7B) in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* 1998;428:281-285.
35. Palsson R, Jonasson JG, Kristjansson M i wsp. Genotype-phenotype interactions in Wilson's disease: insight from an Icelandic mutation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13:433-436.
36. Okada T, Shiono Y, Hayashi H i wsp. Mutational analysis of ATP7B and genotype-phenotype correlation in Japanese with Wilson's disease. *Hum Mutat* 2000;15:454-462.
37. Angius A, Dessi V, Lovicu M i wsp. Early and severe neurological features in a Wilson disease patient compound heterozygous for two frameshift mutations. *Eur J Pediatr* 1998; 157:128-129.
38. Panagiotakaki E, Tzetis M, Manolaki N i wsp. Genotype-phenotype correlations for a wide spectrum of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B). *Am J Med Genet* 2004; 131A(2): 168-173.
39. Wu ZY, Wang N, Lin MT i wsp. Mutation analysis and the correlation between genotype and phenotype of Arg778Leu mutation in Chinese patients with Wilson disease. *Arch Neurol* 2001;58:971-976.
40. Loudianos G, Dessi V, Lovicu M i wsp. Mutation analysis in patients of Mediterranean descent with Wilson disease: identification of 19 novel mutations. *J Med Genet* 1999;36: 833-836.
41. Deguti MM, Genschel J, Cancado EL i wsp. Wilson disease: novel mutations in the ATP7B gene and clinical correlation in Brazilian patients. *Hum Mutat* 2004;23:398-407.