

È tempo di ridefinire gli intervalli di riferimento e terapeutici della cupruria nella malattia di Wilson?

Maria Flavia Starita¹, Fabiola Di Dato², Margherita Matarazzo³, Raffaele Iorio^{2,4}, Marcella Savoia^{1,5}

¹Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli

²Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, sezione Pediatria, Università Federico II, Napoli

³Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, sezione Medicina Interna, Università Federico II, Napoli

⁴U.O.S. di Epatologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli

⁵D.A.I. Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli

ABSTRACT

Is it time to redefine cupruria reference and therapeutic intervals in Wilson's Disease?

Wilson's Disease (WD) is an autosomal recessive genetic disease caused by mutations to the copper-transporting gene *ATP7B*. WD leads to hepatic copper retention with subsequently clinical manifestations in different organs. The biochemical diagnostic approach includes measurement of serum ceruloplasmin levels and 24-hour urinary copper excretion (uCu/24h). WD patients are generally treated with D-penicillamine and cupruria is necessary to confirm the efficacy of maintenance treatment and the patient's adherence to therapy. A 30-year-old man was diagnosed with WD at the age of 5 and, since then, was treated with D-penicillamine. In this patient the uCu/24h values never fell within the range recommended by International Guidelines, but no clinical or subclinical progressions of the disease were found. The information derived from this single WD patient, monitored by serial clinical and laboratory checks for more than twenty years, may be useful for a better long-term management of WD, although we suggest that multicenter studies to re-define cupruria reference and therapeutic intervals are needed.

CASO CLINICO

Un paziente maschio di 5 anni giunge nel mese di dicembre del 1994 presso l'U.O.S. di Epatologia Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II di Napoli per riscontro di elevati livelli di: aspartato aminotransferasi (AST), 130 U/L (v.r. <34); alanina aminotransferasi (ALT), 395 U/L (v.r. <55); gamma glutamil transferasi (GGT), 187 U/L (i.r. 12-64). Tali indagini erano state richieste perché il paziente lamentava dolore addominale e sintomi aspecifici quali dispepsia.

Vengono escluse le principali cause di epatopatia colestatica anitterica in età pediatrica (infezioni, celiachia, epatite autoimmune, patologie biliari, epatotossicità da farmaci). Nell'ambito delle malattie genetico-metaboliche che si manifestano con ipertransaminasemia, si sono valutati i biomarcatori di

primo livello della malattia di Wilson (MW) (1). Presso il D.A.I. di Medicina di Laboratorio vengono eseguite: la misura nefelometrica dei livelli sierici di ceruloplasmina (Cp), 0,16 g/L (i.r. 0,2-0,6), con reagenti e su strumentazione BNP-ProSpec (Siemens Healthcare Diagnostics); la determinazione, mediante spettroscopia di assorbimento atomico con strumentazione PinAAcle 900T (PerkinElmer), dei livelli di rame urinario su campione delle 24h (uCu/24h), 270 µg/24h (v.r. <40) e del rame sierico (sCu), 0,7 µg/L (i.r. 0,69-1,22).

Essendo questi risultati suggestivi di MW (1) si era reso necessario eseguire al piccolo paziente una biopsia epatica che ha mostrato: struttura lobulo laminare conservata; infiltrati focali intralobulari con necrosi puntiforme; iperplasia delle cellule del Kupffer; steatosi del 75%; livelli di rame intraepatico, misurati in spettroscopia di assorbimento atomico (2), pari a 1129 µg/g di tessuto secco (v.r. <50). Infine, l'analisi

Corrispondenza a: Marcella Savoia, Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Via Sergio Pansini 5, 80131 Napoli, Tel 0817463842, E-mail marcella.savoia@unina.it

Ricevuto: 12.03.2020

Revisionato: 16.03.2020

Accettato: 16.04.2020

Pubblicato on-line: 09.07.2020

DOI: 10.19186/BC_2020.041

molecolare, appena disponibile, attraverso l'identificazione della mutazione H1069Q in omozigosi, ha permesso di confermare la diagnosi di MW.

Il paziente intraprende nel marzo 1995 trattamento con chelante del rame, D-penicillamina al dosaggio di 20 mg/Kg/die, somministrato in due dosi lontano dai pasti (3). Vengono monitorati i parametri AST, ALT, GGT e uCu/24h ogni tre mesi fino a normalizzazione degli indici di citolisi epatica e, annualmente, dopo avere verificato la stabilizzazione della malattia. I livelli di transaminasi e GGT si sono prontamente normalizzati (Figura1), con i seguenti valori medi registrati dal 1996 al 2019: AST 26 U/L (intervallo 14-52); ALT 38 U/L (intervallo 20-96); GGT 23 U/L (intervallo 16-42).

Durante il monitoraggio si assiste ad una progressiva diminuzione dei livelli di Cp, da 0,16 g/L alla diagnosi a valori di 0,07 g/L nel 2019. Sebbene il trattamento con chelanti nella fase di mantenimento sia considerato efficace per valori di uCu/24h (misurati in spettroscopia di assorbimento atomico) compresi tra i 200-500 µg/24h, da raggiungere già dopo il primo anno di terapia (1), durante i 25 anni circa di monitoraggio i livelli misurati, (valore medio: 951 µg/24h, intervallo 518-1536), non sono mai rientrati nell'intervallo atteso. Il paziente presenta però un decorso clinico estremamente favorevole: assenza di epatosplenomegalia e di altri segni di epatopatia; normalità della crescita e dello sviluppo psico-motorio; assenza di sintomatologia neurologica e dell'anello di Kayser-Fleischer; assenza di sviluppo di ipertensione portale e di ipersplenismo. All'ecografia persiste solo una steatosi epatica di grado lieve-moderato; gli enzimi epatici, gli indici di sintesi delle proteine e l'esame emocromocitometrico risultano sempre nella norma. Durante il monitoraggio si effettua anche una risonanza magnetica nucleare (RMN) dell'encefalo per escludere patologie cerebrali subcliniche, con esito negativo, confermando l'assenza di alterazioni cerebrali significative.

DISCUSSIONE

La MW è un disordine genetico del metabolismo del rame a trasmissione autosomica recessiva, con una prevalenza stimata nel mondo di circa 1:30 000 - 50 000 individui (4).

Il gene responsabile della malattia, localizzato sul cromosoma 13q14, codifica per una proteina di membrana ATP7B, appartenente alla famiglia delle P-type ATPase, espressa primariamente nel fegato e il cui ruolo è quello di regolare il trasporto del rame (5).

In presenza di livelli fisiologici di rame, la proteina ATP7B, necessaria per facilitare l'acquisizione del rame da parte di proteine quali la Cp, è localizzata a livello del Trans Golgi Network (TGN). In condizioni di aumento della concentrazione di rame intracellulare, a livello dell'epatocita avviene il rilascio dell'ATP7B, trasferita in forma vescicolare dal TGN al polo canalicolare, sito di escrezione del rame (6).

Mutazioni del gene *ATP7B* inducono: una diminuzione della sintesi della Cp; ridotta escrezione del rame nella bile; accumulo del rame a livello epatico e in altri organi (in particolare cervello, cornea e tubuli renali).

A causa della molteplicità degli organi colpiti, la MW presenta un fenotipo molto variabile, dipendente anche dall'età di insorgenza della malattia, che si manifesta solitamente nelle prime decadi di vita, prevalentemente tra i 5 ed i 35 anni (7). Nei primi anni di vita, la MW si presenta spesso con un quadro di epatopatia, mentre con l'avanzare degli anni si osserva maggiormente un quadro neuropsichiatrico. L'eterogeneità dell'espressione clinica rende difficile la diagnosi soprattutto in età pediatrica, e per tale motivo è necessario mantenere alto l'indice di sospetto. In Italia, la maggior parte dei pazienti affetti da MW è identificata in seguito al riscontro occasionale di aumento delle transaminasi, dovuto alla consuetudine del nostro paese di richiedere la loro determinazione anche in assenza di specifiche condizioni cliniche (6).

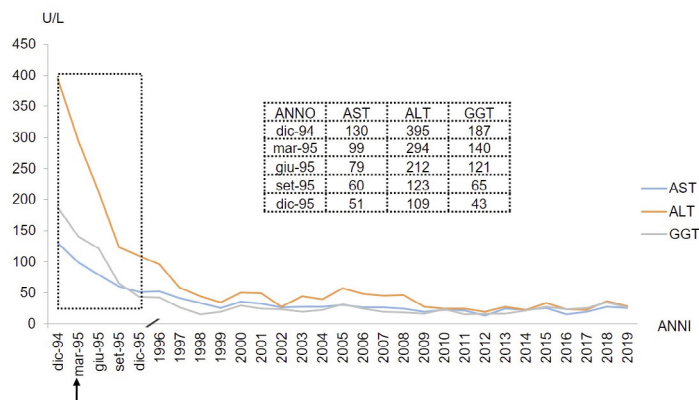


Figura 1

Livelli di AST, ALT e GGT registrati da dicembre 1994 a ottobre 2019.

Nel riquadro sono riportati i valori osservati ogni tre mesi nel primo anno (1994-1995).

↑, inizio trattamento con D-penicillamina, dosaggio 20 mg/Kg/gg

Diagnosticare precocemente la MW è di fondamentale importanza in quanto consente di trattare farmacologicamente i pazienti prima dell'insorgenza di gravi danni epatici e neurologici. Data la difficoltà nel formulare una diagnosi precoce, per la mancanza di singoli elementi clinici e/o biochimici che consentano una diagnosi certa di MW, fatta eccezione per l'indagine molecolare di secondo livello, è stato proposto da Ferenci et al. uno score diagnostico che include criteri clinici, biochimici, istologici e molecolari (8).

Un esame di primo livello è rappresentato dalla misura della Cp. Sebbene la misura nefelometrica comunemente impiegata non sia in grado di discriminare la Cp (forma matura legata al rame) dall'apoCp (forma non legante il rame), i livelli risultano comunque ridotti nella MW, a causa dell'alterata biosintesi della Cp e della breve emivita della apoCp, circa 5 ore contro i 5,5 giorni della Cp (1). Altro esame diagnostico di primo livello è uCu/24h, dove il rame urinario riflette la quota di rame libero circolante: una cupruria >40 µg/24h è considerata suggestiva di MW (6).

Nell'iter diagnostico viene consigliata la determinazione del sCu e quella del rame epatico, se quest'ultima è >250 µg/g di peso secco, è altamente indicativa di MW (4). L'analisi molecolare del gene *ATP7B* rappresenta comunque il test dirimente.

I farmaci ad oggi impiegati per il trattamento dei pazienti MW sono i chelanti del rame, come la D-penicillamina, che promuove l'escrezione del rame urinario o i sali di zinco che inducono le metallotioneine epatiche ed intestinali, inibendo l'assorbimento del rame e favorendone l'eliminazione con le feci.

Il trattamento con D-penicillamina viene considerato efficace quando la cupruria, già dopo il primo anno di terapia, risulta compresa tra 200-500 µg/24h; livelli inferiori o superiori sono indicativi rispettivamente di una scarsa compliance o di eccessivo trattamento (9).

Il caso clinico in esame presentava alla diagnosi, effettuata all'età di 5 anni, incrementi di AST, ALT, GGT ed epatomegalia, segnali sufficienti a far sorgere al clinico il sospetto di MW. Gli esami specifici di primo livello, Cp e uCu/24h, risultavano francamente alterati, mentre il sCu era nella norma e la conseguente biopsia epatica mostrava incrementi del rame epatico. La diagnosi è stata poi confermata dal test genetico che ha identificato una mutazione in omozigosi di H1069Q, la più comune nel mondo occidentale, con frequenza allelica del 13-17% nella popolazione italiana (10).

Il paziente, trattato con D-penicillamina, ha mostrato livelli di Cp tendenti nel tempo a diminuire progressivamente. Tale decremento potrebbe essere causato da una eccessiva deplezione in circolo del rame, con conseguente aumento dell'apoCp rapidamente degradabile, e diminuzione del sCu, valore medio 0,4 mg/L (intervallo 0,11-0,71). Durante il trattamento sono stati osservati valori di uCu/24h sempre al di sopra dell'intervallo atteso (200-500 µg/24h), con livelli anche particolarmente elevati, e un valore medio 951 µg/24h (intervallo 518-1536). Tale

risposta al farmaco ha indotto a prendere in considerazione un passaggio alla terapia con sali di zinco che però il paziente ha rifiutato. È stato pertanto proseguito il trattamento con D-penicillamina (stabilizzato nel tempo alla dose di 1200 mg/die) che, pur non avendo consentito il raggiungimento dei livelli attesi di uCu/24h, aveva portato ad una pronta normalizzazione di AST, ALT e GGT e alla mancata progressione clinica della malattia. Durante il monitoraggio non sono stati osservati innalzamenti dei livelli delle transaminasi e l'RMN dell'encefalo, eseguita nel 2019, non ha mostrato alterazioni.

Il caso presentato ha dimostrato, a nostra conoscenza per la prima volta, che è possibile una evoluzione favorevole della MW, sotto terapia con D-penicillamina, anche quando i livelli di uCu/24h risultano superiori a quelli indicati dalle linee-guida internazionali. Pur trattandosi di un singolo paziente, il monitoraggio più che ventennale con valutazione periodica delle possibili complicanze epatiche, neurologiche e psichiatriche, dà forza alla nostra osservazione e può essere utile per chi gestisce la terapia nel lungo termine, sebbene studi multicentrici siano auspicabili al fine di rivisitare gli intervalli di escrezione urinaria del rame, sia di riferimento che di valutazione dell'efficacia della terapia.

Infine, si sottolinea l'importanza della stretta collaborazione tra clinica e laboratorio e la necessità di monitorare costantemente, sia dal punto di vista clinico che laboratoristico, i pazienti affetti da MW. Per far fronte a questa esigenza presso l'AOU Federico II di Napoli è attivo dal 2017 il Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale (PDTA) dedicato alla MW, costituito da un gruppo multidisciplinare clinico e laboratoristico in grado di prendere globalmente in cura il paziente affetto da MW.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Mohr I, Weiss KH. Biochemical markers for the diagnosis and monitoring of Wilson disease. *Clin Biochem* 2019;40:59-77.
2. Duncan A, Christopher FH, Catchpole A et al. Is the measurement of copper and iron in liver biopsies reliable? Results from a pilot external quality assurance scheme. *J Trace Elem Med Bio* 2019;52:288-92.
3. European Association for the Study of the Liver (EASL). Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *J Hepatol* 2012;56:671-85.
4. Stättermayer AF, Entenmann A, Gschwanter M et al. The dilemma to diagnose Wilson disease by genetic testing alone. *Eur J Clin Invest*. 2019;49:e13147.
5. Medici V, LaSalle JM. Genetics and epigenetic factors of Wilson disease. *Ann Transl Med* 2019;7 (Suppl 2):S58.
6. Ranucci G, Zappu A, Lepori MB et al. Malattia di Wilson: ancora una sfida diagnostica. *Prospettive in Pediatria* 2012;42:12-20.

7. Boga S, Ala A, Schilsky ML. Hepatic features of Wilson disease. *Handb Clin Neurol* 2017;142:91-9.
8. Ferenci P, Caca K, Loudianos G et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Inter* 2003;23:139-42.
9. Rodriguez-Castro KI, Hevia-Urrutia FJ, Sturniolo GC. Wilson's disease: A review of what we have learned. *World J Hepatol* 2015;7:2859-70.
10. Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing. *Hum Genet* 2006;120:151-9.