

Morbus Wilson: eine klinische und molekularbiologische Kasuistik

■ C. Noppen^a, L. Aerne-Wyrsh^b, J. Wyrsh^c, E. H. Viollier^a, K. Hess^d, C. Schaefer^a

^a Abteilung Molekularbiologie/Genetik, Viollier AG, Basel

^b Medizinische Poliklinik, Universitätsspital Zürich

^c Facharzt FMH für Allgemeine Medizin, Tuggen

^d Neurologische Klinik, Universitätsspital Zürich

Summary

Noppen C, Aerne-Wyrsh L, Wyrsh J, Viollier EH, Hess K, Schaefer C. [Clinical and genetic profile in Wilson's disease: a case report with a family pedigree.] Schweiz Arch Neurol Psychiatr 2006;157:323–6.

Wilson's disease is a rare autosomal recessively inherited disorder of copper metabolism resulting in accumulation of copper in many organs. The Kayser-Fleischer corneal ring represents a typical symptom in Wilson patients. *ATP7B*, the gene product of the Wilson's disease gene, is expressed in hepatocytes and plays a critical role in copper transport and secretion. Mutations encompassing this gene leading to amino acid substitutions reduce the affinity of the ATPase enzyme to copper and prevent the transport of copper through the hepatocytes into the bile duct. More than 200 mutations in the 21 coding exons of the Wilson's disease gene *ATP7B* have been described, the most common European one being His1069Gln (30–60% in European patients). Wilson's disease may present with various clinical symptoms, commonly as liver and neuropsychiatric disease. The diagnosis of Wilson's disease (prevalence 1:30 000) is based on a combination of clinical and neurological symptoms (Kayser-Fleischer corneal ring, MRI), a multi-parametric clinical chemistry panel (ceruloplasmin, 24 h-copper excretion in urine, serum copper) and molecular genetic analysis of *ATP7B* gene mutations. Symptomatic patients are treated with the chelating agents D-penicillamine or trientine, and in a second phase often with zinc. Lifelong therapy is required and provides life expectancy near to normal.

Here, we report on the long-term follow-up of a 30-year-old Wilson patient displaying a compound heterozygosity of His1069Gln – Asn1270Ser mutations in the *ATP7B* gene as diagnosed by LightCycler real time polymerase chain reaction and DNA sequencing of exon 18. Molecular family-pedigree analysis over four generations revealed seven additional heterozygous mutation carriers. Treatment of the index patient with high doses of chelating agent D-penicillamine (1500 mg/d) in combination with zinc (150 mg/d) could reverse copper encephalopathy to normal and markedly reduced neurological symptoms. Kayser-Fleischer corneal ring was persistent. Wilson's disease should be taken into consideration in case of any liver disease of unknown origin or neuropsychiatric symptoms. Current diagnostic panels (international scoring system) encompassing clinical chemistry and molecular genetics for screening and confirmation of Wilson's disease are discussed.

Keywords: Wilson's disease; copper; *ATP7B*; D-penicillamine

Anamnese, Befunde und Verlauf

Die frühkindliche Entwicklung des Patienten verläuft normal. In der Primarschule erzielt er gute Noten. Mit 12 Jahren kommt es zu starkem Nasenbluten, worauf eine akute hämolytische Krise gefunden und die Labordiagnose Morbus Wilson (hepato-lentikuläre Degeneration) gestellt wird, unterstützt durch eine Leberbiopsie [1, 2]. Die Behandlung erfolgt mit 900 mg D-Penicillamin täglich (Tab. 1).

Nach nicht bestandener Aufnahmeprüfung in die Mittelschule besucht der Patient die Sekundarschule. In den folgenden Jahren nimmt die schulische Leistungsfähigkeit weiter ab, das Schriftbild verschlechtert sich zunehmend (Abb. 1).

Trotz Nachhilfestunden besteht der Patient im Alter von 20 Jahren die Lehrabschlussprüfung als Hochbauzeichner im praktischen Teil nicht,

Korrespondenz:

Dr. phil. II Christoph Noppen

Molekularbiologie/Genetik

Viollier AG

Spalenring 145/147

CH-4002 Basel

e-mail: christoph.noppen@viollier.ch

Tabelle 1 Labordiagnostik des Kupferstoffwechsels im Verlauf.

	22jährig	29jährig
Zärluplasmin	nicht nachweisbar [200–600 ng/L]	48 ng/L [200–600 ng/L]
totales Serum-Kupfer	4,7–5,2 µmol/L [11–24 µmol/L]	3,8 µmol/L [11–24 µmol/L]
Kupfer-Exkretion im Urin	17–24 µmol/24 h [<1,8 µmol/24 h]	16 µmol/24 h [<1,8 µmol/24 h]
Leberenzyme und Gerinnung	normal	normal
Kayser-Fleischer-Ring	+	+
Medikation	D-Penicillamin 900 mg/die	D-Penicillamin 1500 mg/die Zink-Acetat 3 × 170 mg/die

weil das Zeichnen und Beschriften nicht den Anforderungen genügt. Alkoholabusus, vermehrter Rauschgiftkonsum und ein Suizidversuch mit Schlaftabletten sind die Folge.

Es kommt zu zeitweisem Zittern der rechten Hand und Kopfwackeln, was unter regelmässiger Einnahme von D-Penicillamin besser wird. Die Sprache wird jedoch zunehmend verwaschener, erschwertes Schlucken und das Gefühl vermehrten Speichelflusses stellen sich ein.

In der neurologischen Untersuchung wirkt der 21jährige Patient psychomotorisch verlangsamt. Neben dem Kayser-Fleischerschen Kornealring werden eine mittelschwere Dysarthrie, verplumpte Feinmotorik sowie fluktuierender Aktionstremor der Hände und Kopfhaltetremor festgestellt. Der übrige Neurostatus ist normal. Im erweiterten neuropsychologischen Test sind die spontane Wortproduktion leicht reduziert, die Interferenzanfälligkeit erhöht und die Fehlerkontrolle leicht vermindert. Psychisch ist der Patient unauffällig.

Auffälligkeiten im MRI, FDG-PET und EEG (Tab. 2, Abb. 2) bestätigen ein Übergreifen der Wilson-Krankheit auf das Gehirn. Die Kupfereliminierende Behandlung wird verstärkt, mit Steigerung des D-Penicillamins von 900 auf 1500 mg/die und neu, Zink-Acetat 3 × 170 mg, entsprechend 150 mg ionisiertem Zink täglich.

Die neue Medikation ist gut verträglich, der Patient fühlt sich drei Monate später besser. Das Schlucken ist jetzt normal, die Dysarthrie unverändert. Die Feinmotorik der Finger rechts ist gering vermindert, mit Tendenz zum «en bloc»-Bewegen; Diadochokinese und Klatschversuch sind normal, ebenso Schrift und Zeichnen einer Spirale an der Wandtafel. Minimaler Haltetremor der Hände, noch im Normbereich, ist feststellbar.

Bei einer Kontrolle sechs Jahre später ist der nun 28jährige Patient psychomotorisch noch leicht verlangsamt, die Feinmotorik nur noch minim verplumpt, Schrift- und Zeichenprobe gelingen ohne Zittern. Der übrige Neurostatus ist normal. Der Patient arbeitet seither unter derselben Medikation zu 100% als selbständiger Landschaftsgärtner.

Molekulargenetik

Im Rahmen der molekulargenetischen Abklärung wird bei dem Patienten zunächst eine Heterozygotie His1069Gln mittels LightCycler PCR (Polymerase-Kettenreaktion) und nachfolgender Schmelzkurvenanalyse der fluoreszierenden Gensonden festgestellt (Abb. 3A) [3]. Das LightCycler-Verfahren eignet sich zum schnellen

Abbildung 1 Schriftprobe des 22jährigen Wilson-Patienten.

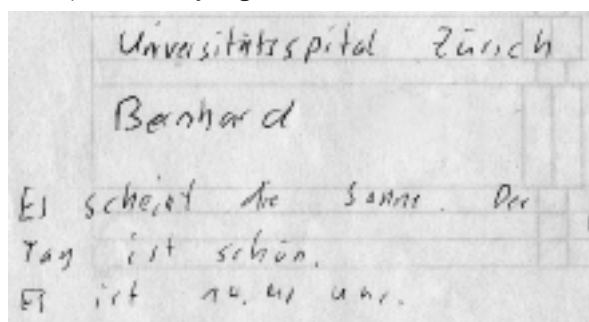
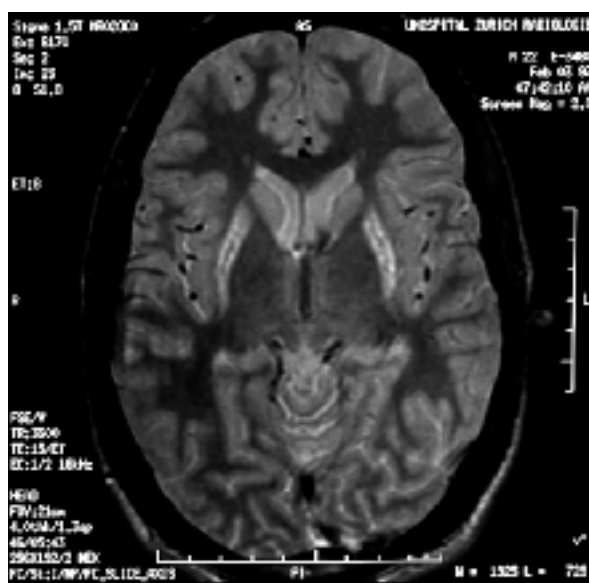


Tabelle 2 Neurologischer Status und Leberbefund vor Therapieumstellung.

MRI	T ₁ -hypointense/T ₂ -hyperintense Signal-Alteration im Volumen-reduzierten Putamen beidseitig
FDG-PET	hypometabole Stammganglien-Areale
EEG	bitemporale Funktionsstörung
Ultraschall, Abdomen	Leber normal, leichte Splenomegalie

Abbildung 2 Axiales MRI (Protonen-gewichtet) des 22jährigen Wilson-Patienten mit typischer, d.h. hochspezifischer symmetrischer Putamen-Läsion.



labormedizinischen Routinenachweis definierter Mutationsstellen. Zur Analyse von weiteren vererbten Mutationen innerhalb dieser Gensequenz steht die Sequenzanalyse zur Verfügung. Durch Sequenzierung weiterer Exons in diesem Gen wird zusätzlich die Mutation Asn1270Ser auf dem anderen homologen Chromosom gefunden und

damit eine kombinierte Heterozygotie bestätigt (Abb. 3B). Auf Wunsch der Familie wird die Trägerschaft sieben weiterer Verwandter sowie die Herkunft dieser Mutationen im Rahmen eines Familienstammbaums (obligate Träger) über vier Generationen belegt (Abb. 4).

Abbildung 3 LightCycler PCR mit nachfolgender Schmelzkurvenanalyse der Mutation His1069Gln im Exon 14 des *ATP7B*-Gens. Heterozygote Träger weisen zwei Wendepunkte bei den Temperaturen 59 °C (entsprechend der Mutation) und 66 °C (Wildtyp) auf (Abb. A). Sequenzierung des Exons 18 und Analyse der Mutationsstelle Asn1270Ser mit dem Basenaustausch Thymin [T] nach Cytosin [C] (Abb. B). Untersuchung in Zusammenarbeit mit Dr. P. Ferenci, Medizinische Universität Wien, Österreich.

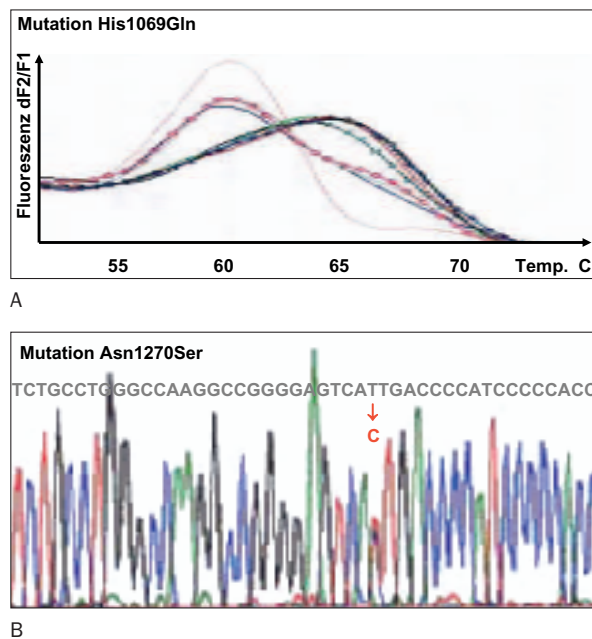
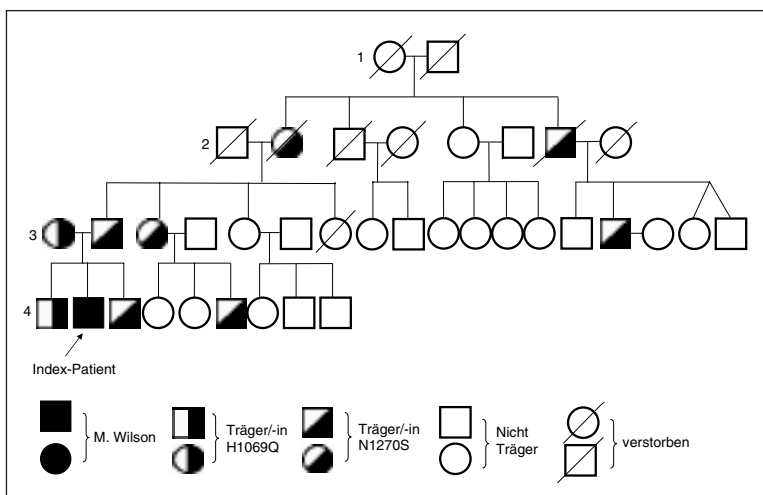


Abbildung 4 Familienstammbaum mit Kennzeichnung der Mutations-träger His1069Gln und Asn1270Ser über 4 Generationen. Die Generationen sind mit 1–4 gekennzeichnet. Die verstorbenen Personen (durchgestrichene Symbole) wurden nicht molekularbiologisch getestet, die Überträger der Mutation Asn1270Ser tragen die entsprechenden Symbole.



Diskussion

Die Wilson-Krankheit ist eine seltene autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselstörung mit einer Prävalenz von etwa 1:30 000. Nur bei Mutationen in beiden Allelen des *ATP7B*-Gens kommt es zum «loss of function» und damit zur klinischen Manifestation [4, 5]. Deshalb ist die Familienanamnese oft stumm. Die Erkrankung wird wie bei unserem Patienten mehrheitlich im Kindesalter und wegen Leberfunktionsstörungen diagnostiziert, noch bevor sie neurologisch symptomatisch wird.

Die neurologischen Manifestationen sind mannigfaltig. In der Regel ist initial ein Stammganglien-Syndrom mit Parkinson-Zeichen und/oder Dystonie im Vordergrund, zusammen mit leichter mentaler Alteration und/oder zerebellären Zeichen vor allem der Arme. Jeder Tremor im Kindes- und frühen Erwachsenenalter ist abklärungsbedürftig! Psychiatrische Symptome werden in bis zu 30% der Fälle manifest und umfassen kognitive Störungen, Persönlichkeitsveränderungen, Depression bis hin zur Schizophrenie [1, 6].

Bei unserem Patienten kommt es wegen ungenügender Kupfer-Clearance im Laufe von Jahren zu einem leichten Frontalhirn-Syndrom, einem Stammganglien- (Feinmotorikdefizit, «en bloc»-Fingerspiel) und leichten zerebellären Syndrom (Kopf- und Händetremor vom zerebellären Typ), typischerweise assoziiert mit dem Kayser-Fleischerschen Kornealring. Durch geeignete Behandlung kann die Kupfer-Enzephalopathie weitgehend rückgängig gemacht werden.

Der persistierende Kayser-Fleischersche Kornealring weist jedoch darauf hin, dass die pathologische Kupferdeposition nicht mehr leicht aus den Zellen zu schaffen und deshalb durch adäquate Kupfer-Clearance frühzeitig eine ausgeglichene Kupfer-Balance anzustreben ist. D-Penicillamin fördert die Kupferrückbildung und wird als Mittel der ersten Wahl zur Behandlung von symptomatischen Patienten eingesetzt. Hier kommt es bei 10–50% der Patienten initial zu einer Verschlechterung der neurologischen Symptome. Treten schwere immunologisch vermittelte Reaktionen wie z.B. Tubulopathie, nephrotisches Syndrom, Lupus erythematosus oder Knochenmarkdepression (20–30% der Patienten) auf, muss das Medi-

kament zügig abgesetzt werden. Als Alternative steht die Trientin-Therapie zur Verfügung, die zusätzlich die intestinale Kupferresorption hemmt und ebenfalls für den Langzeiteinsatz geeignet ist. In einer Studie mit 127 Patienten, die mit D-Penicillamin behandelt wurden, betrug die Überlebensrate nach 15 Jahren 74% [7]. Durch eine Lebertransplantation wird der Gendefekt korrigiert, da die neue Leber ein funktionstüchtiges Gen besitzt. Die Behandlung soll an das jeweilige klinische Stadium der Krankheit angepasst werden (präsymptomatisches Stadium, Zustand der Leber, Zustand des Gehirns und des Nervensystems).

Wie haben sich die diagnostischen Möglichkeiten bei der Wilson-Krankheit in den letzten Jahren entwickelt? Die Bestimmungen von Zärluplasmin [200–600 ng/L] und Kupfer im Serum (11–24 µmol/L) sowie die Kupferbestimmung im 24-h-Sammelurin (<1,8 µmol/24 h) sind nach wie vor die Grunduntersuchungen zur Verifizierung oder zum Ausschluss bei Wilson-Verdacht. Die Bestimmung des Kupfergehaltes in der Leber (>250 µg/g Trockengewicht) erfordert einen invasiven Eingriff und ist bei 82% der Patienten erhöht [1]. Da Zärluplasmin z.B. auch bei heterozygoten Mutationsträgern und anderen Erkrankungen erniedrigt sein kann, ist die Bestimmung einerseits wegen des tiefen positiven Vorhersagewertes (5,9), andererseits aus Kostengründen kaum zum Screening von präsymptomatischen Patienten geeignet. Die Messung der Kupferausscheidung im Urin stellt die beste Screeningmethode dar und wird auch zum Monitoring eingesetzt. Bei 65% aller Patienten werden vor Therapie Werte von >160 µg/24 h gemessen, nach Behandlungsbeginn sind es >1600 µg/24 h in über 90% der Fälle mit aktiver Lebererkrankung. Aufgrund der Einschränkungen in punkto Sensitivität und Spezifität der Einzelanalyten wurde ein multiparametrisches Scoresystem durch Ferenci et al. für die Wilson-Diagnose vorgeschlagen [8–10].

Hinzu kommt heute bei laborchemisch erhärtetem Wilson-Verdacht die genetische Abklärung. Die Mutation His1069Gln im *ATP7B*-Gen-Produkt ist in Europa als Hauptmutation beschrieben worden (30–60% der Patienten) und bewirkt eine Erniedrigung der Affinität des Enzyms zu Kupfer. Jeder 90. Mensch kaukasischen Ursprungs ist Träger einer Mutation im *ATP7B*-Gen. Darüber hinaus sind mehr als 200 weitere Mutationen in den 21 Exons dieses Gens beschrieben worden, die in Kombination mit der erstgenannten zur Manifestation der Erkrankung führen können (kombinierte Heterozygotie) [11].

Die systematische Familienabklärung, auch seltener genetischer Prädispositionen für Morbus Wilson, steht mittlerweile zur Verfügung und ermöglicht eine frühzeitige Bestätigung bei entsprechendem Verdacht. Sie öffnet den Weg für die prophylaktische Behandlung im asymptomatischen Krankheitsstadium und Beratung der Familienangehörigen, insbesondere der Geschwister mit Krankheitsrisiko.

Der vorliegende Familien-Stammbaum zeigt die genetischen Untersuchungen über vier Generationen in zwei Familien, die je eine Genmutation einbrachten. Dieser genetische Stammbaum ermöglicht die Abschätzung des Krankheitsrisikos und präzise genetische Beratung, und wenn nötig, das frühzeitige Monitoring von asymptomatisch Erkrankten. Familiengeschichte hilft, Erbkrankheiten zu bewerten, zu verhindern und zu behandeln.

Danksagung: Ganz herzlichen Dank an Frau Dr. Regula Perret und Frau Elisabeth Anliker für ihre Mitarbeit am Manuskript.

Literatur

- 1 Ferenci P. Pathophysiology and clinical features of Wilson's disease. *Metab Brain Dis* 2004;19:229–39.
- 2 Schaefer M, Gitlin JD. Genetic disorders of membrane transport. IV. Wilson's disease and Menkes disease. *Am J Physiol* 1999;276:G311–4.
- 3 Witt H, Landt O. Rapid detection of the Wilson's disease H1069Q mutation by melting curve analysis with the LightCycler. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:953–5.
- 4 Kitzberger R, Madl C, Ferenci P. Wilson's disease. *Metab Brain Dis* 2005;20:295–302.
- 5 Jung KH, Ahn TB, Jeon BS. Wilson's disease with an initial manifestation of polyneuropathy. *Arch Neurol* 2005;62:1628–31.
- 6 Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. 3. überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.
- 7 Członkowska A, Tarnacka B, Litwin, T, Gajda J, Rodo M. Wilson's disease – cause of mortality in 164 patients during 1992–2003 observation period. *J Neurol* 2005;252:698–703.
- 8 Cauza E, Maier-Dobersberger T, Polli C, Kaserer K, Kramer L, Ferenci P. Screening for Wilson's disease in patients with liver diseases by serum ceruloplasmin. *J Hepatol* 1997;27:358–62.
- 9 Ferenci P, Caca K, Loudianos G, Mieli-Vergani G, Tanner S, Sternlieb I, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson's disease. *Liver* 2003;23:139–42.
- 10 Roberts EA, Schilsky ML. A practice guideline on Wilson's disease. *Hepatology* 2003;37:1475–92.
- 11 Vrabelova S, Letocha O, Borsky M, Kozak L. Mutation analysis of the *ATP7B* gene and genotype/phenotype correlation in 227 patients with Wilson's disease. *Mol Genet Metab* 2005;86:277–85.