

BOALA WILSON LA COPIL – CRITERII ȘI SCORURI DE DIAGNOSTIC

**Drd. Dr. Alexandra Coroleucă¹, Șef Lucr. Dr. Daniela Păcurar^{1,2},
Prof. Dr. Coriolan Emil Ulmeanu^{1,2}**

¹Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu“, București

²Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“, București

REZUMAT

Boala Wilson este o afecțiune genetică, transmisă autozomal recesiv, ce determină tulburări ale metabolismului cuprului, ducând la acumularea acestuia în țesuturile țintă. Este o afecțiune multisistemică și are tablou clinic foarte polimorf. Stabilirea diagnosticului pozitiv poate fi dificilă, nefiind disponibil un singur test care să confirme sau să infirme cu certitudine această afecțiune. Au fost stabilite criteriile de diagnostic pentru boala Wilson inițial pentru pacienții adulți, ulterior au fost reevaluate pentru copil. Stabilirea diagnosticului precoce permite inițierea terapiei chelatoare la timp, ceea ce oferă un prognostic bun, încetinind progresia bolii. De aceea, se pune foarte mult accentul pe importanța screening-ului familial.

Cuvinte cheie: copil, boala Wilson, criterii de diagnostic

INTRODUCERE

Boala Wilson (BW) reprezintă o tulburare severă a metabolismului cuprului, ce este exprimată clinic printr-un spectru larg de manifestări hepatice, neurologice, oculare, renale, psihiatrice, hematologice și, în cazuri mai rare, endocrinologice, osoase, cutanate etc. BW este determinată de mutații la nivelul genei ATP7B ce codifică ATP-aza transportoare de cupru, având ca urmări acumularea cuprului în organele țintă (1,2). Incidența afecțiunii a fost în creștere în ultimii ani, estimată la 1:30.000 (3). Este o afecțiune cronică, invalidantă, ce necesită tratament chelator toată viața. Stabilirea diagnosticului precoce și inițierea terapiei chelatoare încetinesc evoluția bolii și oferă un prognostic bun. Din aceste motive screeningul familial este recomandat ca metodă de diagnostic încă din perioada asimptomatică sau presimptomatică (4) și, de asemenea, se recomandă screening-ul generației anterioare (5).

Diagnosticul pozitiv de BW este dificil de stabilit deoarece tabloul clinic este foarte variabil, pacienții pot avea numeroase fenotipuri clinice. Niciunul dintre testele de laborator disponibile nu este specific pentru BW și nu stabilește cu certitudine diagnosticul (6). Dacă această afecțiune nu este re-

cunoscută și nu este tratată la timp, evoluția bolii hepatice poate fi rapidă către ciroză și insuficiență hepatică. De asemenea, odată cu întârzierea terapiei, pot apărea leziuni ireversibile ale sistemului nervos central (3).

Pacientul cu suspiciune de BW necesită o evaluare complexă, multidisciplinară: evaluarea funcției hepatice, studii imagistice și histologice hepatice, evaluare neurologică și neuroimagică, psihiatrică, oftalmologică, testare genetică. În același timp, trebuie acordată atenție deosebită familiei prin efectuarea screening-ului, cu scopul de a identifica pacienții asimptomatici (7).

Stabilirea diagnosticului se face prin coroborarea datelor clinice și paraclinice. Pe baza acestora se calculează scorul de diagnostic. O valoare a scorului ≥ 4 este înalt sugestivă pentru diagnosticul de BW.

Manifestările clinice în boala Wilson la copil

Conform studiilor recente, s-a stabilit faptul că BW poate apărea la orice vârstă între 3 ani și 74 ani (în medie 13,2 ani), dar rareori simptomatică înainte de vârsta de 5 ani (8). BW este o afecțiune multisistemică având un tablou clinic variabil. În prime-

Adresa de corespondență:

Dr. Alexandra Coroleucă, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu“, București

E-mail: alexandra_moraru@yahoo.com

le decade de viață, predomină manifestările hepatice. După vârsta de 20 ani, 75% dintre cazuri se prezintă cu manifestări neurologice, iar 25% atât cu manifestări hepatice, cât și neurologice (9,10).

Afectarea hepatică în BW este consecința acumulării toxice a cuprului la nivelul hepatocitului, ce determină injurie ireversibilă și apoptoză. Majoritatea copiilor se prezintă inițial cu boală hepatică, în general după vârsta de 5 ani (11). Au fost raportate însă și cazuri de BW hepatică severă la copii mai mici, cu vârstă de 2-3 ani (12). Severitatea bolii hepatice variază de la descoperirea accidentală a citolizei hepatice până la hepatita acută, hepatomegalie, insuficiență hepatică și ciroză (13). Dintre pacienții care au indicație de transplant hepatic de urgență din cauza insuficienței hepatice acute, 6-12% au boala Wilson (14). Într-un studiu pe 156 pacienți cu BW efectuat în Polonia, s-a evidențiat faptul că 94,23% dintre cazurile de pacienți cu BW s-au prezentat cu manifestări hepatice, dintre care 16,23% cu insuficiență hepatică (15). Cirroza hepatică poate fi prezentă în unele cazuri de la diagnostic (16,17).

Noile recomandări ale Societății Europene de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică (ESPGHAN) sunt de a suspiciiona BW la orice copil cu vârstă mai mare de 1 an, care prezintă orice semn de boală hepatică de la citoliză asimptomatică la ciroza hepatică cu hepatomegalie și ascită sau insuficiență hepatică acută (recomandare Grad 1A, nivel de acord 86%) (3).

Manifestările neurologice ale bolii sunt consecința depunerii cuprului predominant la nivelul ganglionilor bazali (nucleu caudat, putamen, globus pallidus), dar și la nivel talamic și, ocazional, la nivelul trunchiului cerebral (18). Deși simptomele neurologice/psihiatrice de obicei apar în a doua sau a treia decadă a vieții, pot ocazional să fie prezente înainte de vârsta de 10 ani și au fost raportate la 4-6% dintre cazurile de copii și adolescenți cu debut hepatic (11).

Cel mai frecvent întâlnite manifestări neurologice și psihiatrice ale BW sunt enumerate în Tabelul 1.

TABELUL 1. Manifestări neurologice și psihiatrice frecvent întâlnite în BW

Manifestări neurologice	Manifestări psihiatrice
Tulburări motorii (tremor, mișcări involuntare, coree)	Depresie
Hipersalivație, dizartrie	Tulburări de personalitate
Distonie rigidă	Psihoză
Pareză pseudobulbară	Comportament nevrotic
Dizautonomie	
Cefalee migrenoasă	
Insomnie	
Convulsii	

Conform recomandărilor ESPGHAN, BW ar trebui exclusă la orice adolescent cu tulburări cognitive, psihiatrice sau de tulburări motorii inexplicabile (recomandare Grad 1A, nivel de acord 96%) (3).

Inelul pericornean Kayser-Fleischer (IKF) și cataracta „în floarea soarelui“ reprezintă manifestările oftalmologice ale BW. Ambele manifestări sunt reversibile cu terapia medicamentoasă sau după transplantul hepatic. IKF reprezintă marca bolii Wilson și apare în urma depunerii cuprului la nivelul membranei corneene Descemet. Unii pacienți pot prezenta doar schițe de IKF. Prezența acestuia este înalt sugestivă pentru diagnostic. Poate lipsi la pacienții de vârstă mică, la cei cu patologie hepatică. În 95% dintre cazuri este prezent la pacienții cu simptomatologie neurologică (19).

Anemia hemolitică Coombs-negativă poate fi singura manifestare inițială a bolii Wilson. Hemoliza marcată este frecvent asociată cu afecțiunea hepatică cronică. Lezarea celulelor hepatice eliberează cantități mari de cupru care agravează hemoliza (1). Anemia hemolitică severă asociată cu insuficiență hepatică poate fi un indiciu pentru BW. Hemoliza izolată este rar întâlnită în absența afectării hepatice semnificative. Diagnosticul este îngreunat în cazul în care anemia hemolitică este simptomul inaugural (20).

Alte manifestări sau forme de prezentare ale BW sunt mai rar întâlnite. Acestea sunt enumerate în Tabelul 2.

TABELUL 2. Alte manifestări mai rare ale BW (21-25)

Organ țintă	Manifestare clinică
Rinichi	Disfuncție tubulară renală (sindrom Fanconi, acidoză tubulară renală, aminoacidurie) Nefrolitiază Nefrocalcinoză
Cord	Cardiomiopatie Aritmii
Sistem endocrin	Hipogonadism hipogonadotrofic secundar afecțiunii cronice hepatice Hipoparatiroidism Tulburări ale ciclului menstrual Infertilitate
Sistem osteoarticular	Osteopenie, osteoporoză Artrită
Cutanate	Lipoame, lunuae cerulae
Gastrointestinale	Pancreatită

Teste paraclinice folosite pentru diagnosticul bolii Wilson la copil

Evaluarea funcției hepatice. În formele ușoare de afectare hepatică, se poate constata un sindrom de citoliză hepatică moderată, cu valorile transami-

nazelor în intervalul 100-500 UI. În formele severe de boală, asociate cu insuficiență hepatică, se întâlnesc în mod tipic valori foarte crescute ale bilirubinei serice ($> 17,5$ mg/dl) și valori scăzute ale fosfatazei alcaline, cu raport fosfatază alcalină (UI)/bilirubină mg/dl < 1 . Aceste caracteristici nu sunt totuși patognomonice pentru BW (3).

Ceruloplasmina serică este transportorul major al cuprului în sânge. De asemenea, este un reactant de fază acută. Concentrația de ceruloplasmină serică este scăzută la nou-născuți, apoi crește treptat cu vârsta, atingând un maxim la jumătatea copilăriei, înainte de a scădea ușor în timpul pubertății (26). Din acest motiv, se recomandă determinarea ceruloplasminei după vârsta de 1 an. Concentrația ceruloplasminei este < 20 mg/dl la majoritatea pacienților cu BW (27). Nivelurile serice scăzute se întâlnesc, de asemenea, în aproximativ 20% dintre cazurile de purtători heterozigoți, pacienți cu insuficiență hepatică, malabsorbție, tulburări de glicozilare, boală Menkes, malnutriție protein-calorică, sindrom nefrotic, enteropatie cu pierdere de proteine, deficit de cupru dobândit și aceruloplasminemie ereditară (6). Studiile recente au arătat că cel mai bun prag al valorii ceruloplasminei care conferă precizie diagnosticului, a fost < 14 mg/dl (cu sensibilitate de 93% și specificitate de 100%), într-un studiu în care au fost incluși 57 de pacienți adulți și copii cu BW ce prezentau disfuncție hepatică și/sau deficite neurologice (28). Valoarea *cut-off* a ceruloplasminei < 20 mg/dl a avut o sensibilitate 95% și specificitate 84,5%, într-un studiu în care au fost incluși 40 de copii cu citoliză asimptomatică (29).

Cupremia sau cuprul seric total include valoarea cuprului liber, nelegat de ceruloplasmină și cuprul legat de ceruloplasmină. În BW, valoarea cupremiei poate fi scăzută, normală sau crescută. Cuprul „liber”, nelegat de ceruloplasmină, poate fi calculat folosind următoarea formulă:

$$\text{[cuprul total seric } (\mu\text{g/dl)} - (3,15 \times \text{ceruloplasmina serică (mg/dl)]}$$

Valorile cuprului liber sunt reduse la pacienții care primesc tratament, de obicei sunt situate între 5 și 15 $\mu\text{g/dl}$. Acest marker este foarte util în monitorizarea tratamentului pacienților cu BW (30,31).

Cupruria/24 ore cuantifică excreția urinară de cupru în 24 de ore. La copiii cu forme asimptomatice sau la copiii cu afecțiuni hepatice ușoare, valorile cupruriei sunt adesea normale. Pragul de diagnostic a fost stabilit la valoarea de 40 mg/24 ore (0,65 mmol/24 ore) cu o sensibilitate de 78,9% și o specificitate de 87,9% (29). Testul de provocare cu penicilamină se realizează prin administrarea a 500

mg D-penicilamină la începutul colectării urinei pe 24 de ore și încă 500 mg administrate cu 12 ore mai târziu. Nu este un test fiabil pentru excluderea diagnosticului în cazurile asimptomatice (sensibilitate 12% și specificitate 46%) pentru valoarea *cut-off* de 1.575 mg/24 ore (25 mmol/24 ore). Reducerea valorii *cut-off* la 200 mg/24 ore (3,2 mmol/24 ore) a crescut sensibilitatea la 88%, dar a dus la o scădere considerabilă a specificității la 24,1% (3,32).

Măsurarea cuprului interschimbabil relativ (*relative exchangeable copper*) este un test nou propus și folosit în anumite centre pentru diagnosticul BW. Acest test se referă la determinarea fracțiunii de cupru seric *labil*, care este legat de albumină și de alte peptide. Un studiu recent a evidențiat faptul că această test are specificitate și sensibilitate de 100% pentru diagnosticul BW la adulți, cu o valoare *cut-off* de 15% (15). Potrivit recomandărilor ESPGHAN, acest test necesită studii suplimentare la copiii cu afectare hepatică, pentru evaluarea acurateții sale diagnostice (3).

Testarea genetică a crescut remarcabil rata de diagnostic, în special în cazurile în care datele clinice și paraclinice sunt dificil de interpretat. Sunt mai mult de 500 mutații ale genei ATP7B implicate în BW. Au fost identificați și indivizi heterozigoți compuși (32,33). Există o distribuție regională a mutațiilor genetice. Anumite mutații au fost descrise cu frecvență mai mare în diferite regiuni geografice astfel: în Europa de Est, cea mai frecventă mutație este H1069Q, în Spania – Met645Arg, în Sardinia s-a identificat mai frecvent mutația c-441 427del15, în Japonia – 229insC, Arg778Leu, Costa Rica – Asp1279Ser iar în China, Coreea și Taiwan este mai frecventă mutația Arg778Leu. Cunoașterea frecvenței acestor mutații facilitează diagnosticul molecular, prin efectuarea testelor genetice rapide, specific (30,34). În România, întâmpinăm dificultăți în această etapa de lucru, din cauza disponibilității reduse a testelor genetice și a costurilor ridicate asociate. Pentru testarea genetică avem disponibile unele teste care studiază 4 mutații din cele 500 de mutații (H1069Q, R778L, A874V și N1270S). Secvențierea genelor nu este disponibilă în țara noastră. Se poate realiza în alte state europene dar costurile sunt foarte ridicate.

Biopsia hepatică pentru diagnosticul de BW este recomandată numai în cazurile în care diagnosticul este neclar. Prin biopsie se poate cuantifica încărcarea hepatică de cupru. Studiul histologic solitar nu poate stabili diagnosticul în absența celorlalte criterii. Particularitățile histologice sunt nespecifice în BW și includ: aspecte de steatoză hepatică (atât microveziculară, cât și macroveziculară),

incluziuni de glicogen în nucleii hepatocitelor periportale și necroză hepatocitară focală, corpi hialini Mallory, care sunt constituiți din incluziuni citoplasmice eozinofile formate din proteine citoscheletice, și inflamație asemănătoare cu cea din hepatita autoimună (35). Depunerile de cupru pot fi evidențiate prin colorațiile: rodamină, orceină sau colorație cu acid rubenic, dar au o valoare de diagnostic limitată. Colorarea negativă nu poate exclude creșterea cantității de cupru hepatic, în timp ce colorarea pozitivă este observată în mai multe afecțiuni asociate cu tulburări ale secreției biliare (3).

Cuantificarea cuprului intrahepatic se recomandă a se efectua în cazurile în care diagnosticul este echivoc conform noilor recomandări ESPGHAN (3). Conform publicațiilor recente, valoarea cuprului hepatic mai mare de 250 μ g/g de țesut uscat (unde valorile normale sunt situate între 15 și 55 μ g/g), acompaniată de valoarea scăzută a ceruloplasminei serice, stabilește diagnosticul de BW. Trebuie avut în vedere faptul că se întâlnesc concentrații crescute de cupru hepatic și în afecțiuni colestatice (ciroză biliară primitivă, colangeită sclerozantă, atrezie biliară, colestază intrahepatică) și, de asemenea, în toxicozele cuprice nonwilsoniene (ciroza copiilor indieni, ciroză infantilă endemică, toxicoză cuprică idiopatică) (30). Cuantificarea cuprului hepatic nu se poate realiza în țara noastră.

Screening-ul familial. Consilierea genetică este recomandată atât de ghidurile europene, cât și de

cele americane (1,36). Este obligatoriul screening-ul fraților pacienților cu BW, deoarece șansa de a fi homozigot și a face boala este de 25% (3). Evaluarea ar trebui să includă examenul fizic complet, determinarea ceruloplasminei serice, testele funcției hepatice și teste moleculare pentru mutațiile ATP7B. Screening-ul nou-născutului nu este justificat și poate fi amânat până la vârsta de 1-2 ani (5).

Scorul de diagnostic. Pentru a facilita diagnosticul, în anul 2001, un consens internațional de experți în domeniu a propus un sistem de punctare, alcătuit dintr-un scor de diagnostic, folosind aspecte clinice, parametrii biochimici (ceruloplasmina serică, cupruria/24 ore) și diagnosticarea moleculară. Acest scor, cunoscut și sub numele de Scorul Ferenci (Tabelul 3), a fost adoptat ulterior pentru baza de date Eurowilson (37).

Valoarea diagnostică a scorului a fost studiată și în populația pediatrică. Pentru o valoare *cut-off* de 4 s-au identificat sensibilitate 98%, specificitate 97% pentru diagnosticul pozitiv. În cazurile cu simptomatologie ușoară, însă scorul a arătat valori predictive pozitive și negative mai mici. Limitele scorului sunt legate de faptul că evaluarea prin suma punctelor depinde de corectitudinea determinărilor efectuate. De asemenea, unele criterii nu pot fi aplicate la copii cu vârste mici (2). Pentru cazurile pediatrice s-au efectuat câteva modificări ale scorului de la Leipzig (29). Aceste modificări sunt prezentate în tabelul 3.

TABELUL 3. Scorul diagnostic în BW (Scorul Ferenci) (6)

Semne și simptome clinice	Scor	Biochimie	Scor
Inel Kayser-Fleischer		Conținutul de cupru hepatic (în absența colestazei)	
Prezent	+1	> 5 LSN (50-250 μ g/g țesut uscat)	+2
Absent	0	<5 LSN (50-250 μ g/g țesut uscat)	+1
		Normal (< 0,8 μ mol/g)	-1
Simptome neuropsihiatrice sugestive sau modificări tipice evidențiate la RMN cerebral		Granule Rodanin pozitive (în cazul în care nu se poate realiza cuantificarea cuprului hepatic)	
Severe		Absente	0
Moderate	+2	Prezente	+1
Absente	+1		
	0		
Anemie hemolitică Coombs negativă + cupremie crescută	+1	Ceruloplasmina serică	0
Prezentă	0	Normal (> 20 mg/dl)	+1
Absentă		10-20 mg/dl	+1
		< 10 mg/dl	+2
Genotipare (analiza genetică ATP7B)		Cupruria (în absența hepatitei acute)	
Mutație detectată pe ambii cromozomi	+4	Normal	0
Mutație detectată pe un singur cromozom	+1	1-2 X LSN	+1
Fără mutație detectată	0	> 2 LSN	+2
		Normal, dar > 5 LSN după testul de provocare cu D penicilamină	+2
Scor total > 4 – probabilitate foarte mare pentru BW			
Scor total 2-3 – diagnostic probabil, dar necesită testare suplimentară			
Scor total 0-1 – diagnostic improbabil			
LSN* – limita superioară a normalului			

CONCLUZII

BW poate îmbrăca numeroase aspecte fenotipice. Este important să fie recunoscute principalele semne și simptome ale bolii pentru a ghida algoritmul investigațional necesar stabilirii diagnosticului. Uneori, stabilirea diagnosticului pozitiv poate fi extrem de dificilă și laborioasă. Criteriile de diagnostic Ferenci vin în ajutorul clinicianului, facilitând diagnosticul. Criteriile și algoritmul investiga-

țional trebuie adaptate disponibilităților și statutului socio-economic al țării. Determinarea ceruloplasminei serice și cupruria/24 ore sunt disponibile și ne pot orienta către diagnostic. În cazurile incerte, se recomandă testarea genetică sau biopsia hepatică. Odată diagnosticat un caz de boală Wilson, trebuie realizat screening-ul familial. Vor fi evaluați frații pacientului, dar și părinții, pentru a putea identifica noi cazuri de boală din perioada asimptomatică sau presimptomatică.

BIBLIOGRAFIE

1. Ferenci P, Czlonkowska A, Stremmel W, Houwen R, Rosenberg W, Schilsky M et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *J Hepatol*. 2012 Mar;56(3):671–85.
2. Robers E, Socha P. Wilson disease in children. Czlonkowska A, Schilsky ML, editors. *Handb Clin Neurol*. Vol. 142. 2017;142:141–56.
3. Socha P, Janczyk W, Dhawan A et al. Wilson's disease in children: A position paper by Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *JPGN*. 2018;66:334–44.
4. Li H, Liu L, Li Y et al. Familial screening of children with Wilson disease: Necessity of screening in previous generation and screening methods. *Med (Baltimore)*. 2018;97(27):e11405.
5. Brunet A-S, Marotte S, Guillaud O et al. Familial screening in Wilson's disease: Think at the previous generation! *J Hepatol*. 2012; 57(6):1394–5.
6. Ferenci P. Diagnosis of Wilson disease. In: *Handbook of Clinical Neurology*. 2017. p. 171–80.
7. Moraru A. Epidemiological features and socioeconomic burden in childhood Wilson Disease. *Rev Română Econ*. 2015;1(49):198–209.
8. Lin L, Wang D, Ding N, Zheng C. Hepatic Manifestations in Wilson's Disease: Report of 110 Cases. *Hepatogastroenterology*. 2015; 62(139):657–60.
9. Riordan SM, Williams R. Wilson's disease gene and phenotypic diversity. *J Hepatol*. 2001;34:165–71.
10. Roberts E, Schilsky ML. AASLD Practice Guidelines: Diagnosis and Treatment of Wilson Disease. *Wiley Intersci*. 2008;2089–111.
11. Rukunuzzaman M. Wilson's disease in Bangladeshi children: Analysis of 100 cases. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2015;18:121–127.
12. Wilson DC, Phillips MJ, Cox DW, Roberts EA. Severe hepatic Wilson's disease in preschool-aged children. *J Pediatr*. 2000; 137(5):719–22.
13. Merle U, Schaefer M, Ferenci P et al. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut*. 2007;56:115.
14. Eisenbach C, Sieg O, Stremmel W, Encke J, Merle U. Diagnostic criteria for acute liver failure due to Wilson disease. *World J Gastroenterol*. 2017; 13:1711–1714.
15. Naroniakoeska M, Dadalski M, Kaminska D et al. Clinical presentation of Wilson disease among Polish children. *Dev Period Med*. 2016; 20(3):216–21.
16. Shah D. Wilson's disease: Hepatic manifestations. *Disease-a-month*. 2014; 60:465–74.
17. Przybylkowski A, Gromadzka G, Chabik G et al. Liver cirrhosis in patients newly diagnosed with neurological phenotype of Wilson's disease. *Funct Neurol*. 2014;29(1):23–29.
18. Czlonkowska A, Litwin T, Chabik G. Wilson disease: Neurologic features. *Handb Clin Neurol*. 2017;142:101–19.
19. Hedera P. Update on clinical management of Wilson disease. *Appl Clin Genet*. 2017;10:9–19.
20. Balkema S, Hamaker ME, Visser HPJ et al. Haemolytic anaemia as first sign of Wilson's disease. *Neth J Med*. 2008;66:344–7.
21. Wang H, Zhou Z, Hu J et al. Renal impairment in different phenotypes of Wilson disease. *Neurol Sci*. 2015;36(11):2111–5.
22. Soni D, Shukla G, Singh S et al. Cardiovascular and sudomotor autonomic dysfunction in Wilson disease – limited correlation with clinical severity. *Aut Neurosci*. 2009;151(2):154–8.
23. Weiss KH, Van de Moortele M, Gotthardt DN et al. Bone demineralisation in a large cohort of Wilson disease patients. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(5):949–56.
24. Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. Endocrine Symptoms as the Initial Manifestation of Wilson's Disease. *Yale J Biol Med*. 2012;249–54.
25. Karrunya KJ, Bavanandam S, Dheivamani N, Vijayabhaskar CR, Manoharan K. Spectrum of cutaneous manifestations in Wilson's disease in children in a tertiary care center in South India: A prospective study. *Int J Contemp Pediatr*. 2017;4:2060–2064.
26. Kelly J, Raizman JE, Bevilacqua V et al. Complex reference value distributions and partitioned reference intervals across the pediatric age range for 14 specialized biochemical markers in the CALIPER cohort of healthy community children and adolescents. *Clin Chim Acta*. 2015;450:196–202.
27. Merle U, Eisenbach C, Weiss KH et al. Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease. *J Hepatol*. 2009;51:925–930.
28. Mak CM, Lam CW, Tam S. Diagnostic accuracy of serum ceruloplasmin in Wilson disease: determination of sensitivity and specificity by ROC curve analysis among ATP7B-genotyped subjects. *Clin Chem*. 2008;54:1356–1362.
29. Nicastro E, Ranucci G, Vajro P et al. Re-evaluation of the diagnostic criteria for Wilson disease in children with mild liver disease. *Hepatology*. 2010;52:p1948.
30. Schilsky ML. Wilson Disease and Related Disorders. In: *Handbook of Liver Disease*. 4th ed. 2018. p. 263–8.
31. Liu J, Luan J, Zhou X, Cui Y, Han J. Epidemiology, diagnosis, and treatment of Wilson's disease. Vol. 6, *Intractable and Rare Diseases Research*. 2017.
32. Seo JK. Diagnosis of Wilson disease in young children: Molecular genetic testing and a paradigm shift from the laboratory diagnosis. *PGHN*. 2012;15(4):197–209.
33. Stoicanescu D, Belengeanu V, Stoian M et al. Clinical value of molecular testing in patients with Wilson disease. *Rev Rom Med Lab*. 2011;19:373–9.
34. Ferenci P. Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: Impact on genetic testing. *Hum Genet*. 2006; 120(2):151–9.
35. Pronicki M. Wilson disease – liver pathology. *Handb Clin Neurol*. 2017;142:71–5.
36. Robers E, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson's disease an update. *Hepatology*. 2008;47:2089–111.
37. Ferenci P, Caca K, Loudianos G et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int*. 2003;23:139–42.