

Enfermedad de Wilson: avances en el diagnóstico y tratamiento

Málaga, Mayo, 2024

Zoe Mariño

Servicio de Hepatología, Hospital Clínic
Barcelona. IDIBAPS, CIBERehd, ERN-RARE
Liver, Universitat de Barcelona



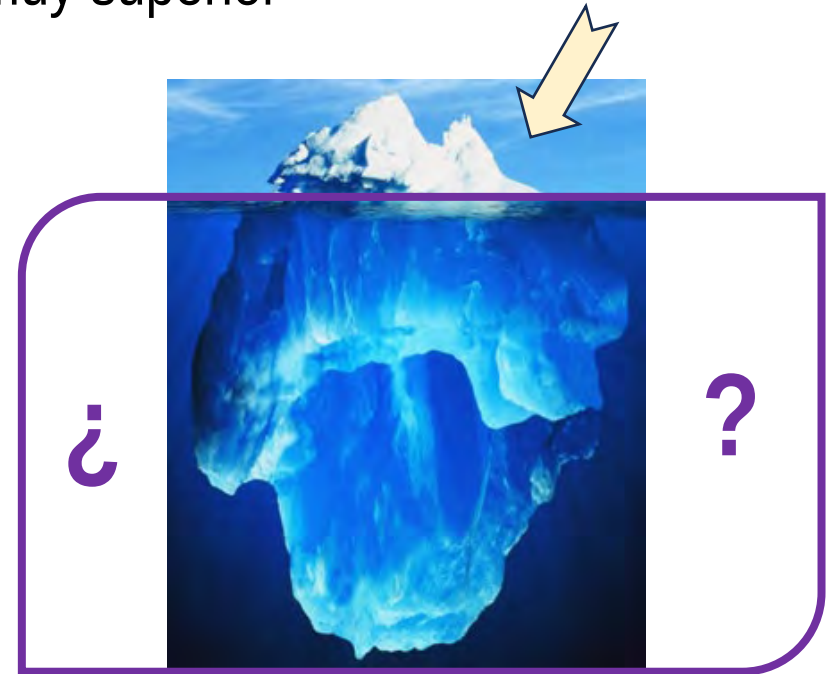
Conflictos de interés

- Consultoría científica para Alexion®, Orphalan®, DeepGenomics®, Gilead®
- Ponencias para Gilead®, Abbvie®, Orphalan®
- Becas de Gilead®
- Directora del Registro Nacional Wilson- AEEH.

Magnitud del problema

- Prevalencia clínica ~ 1/ 30.000 habitantes, 1/90 portadores
- La prevalencia genética en estudios poblacionales es muy superior

Population	Carriers	WD
England, 2013	1/25	1/ 7026
Korea. 2017	1/53	1/ 7561
France, 2018	1/31	NA
Spain, 2022	1/39	1/ 6278



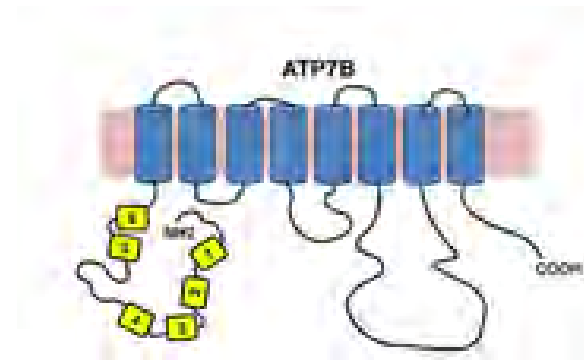


Mejoras en el
diagnóstico

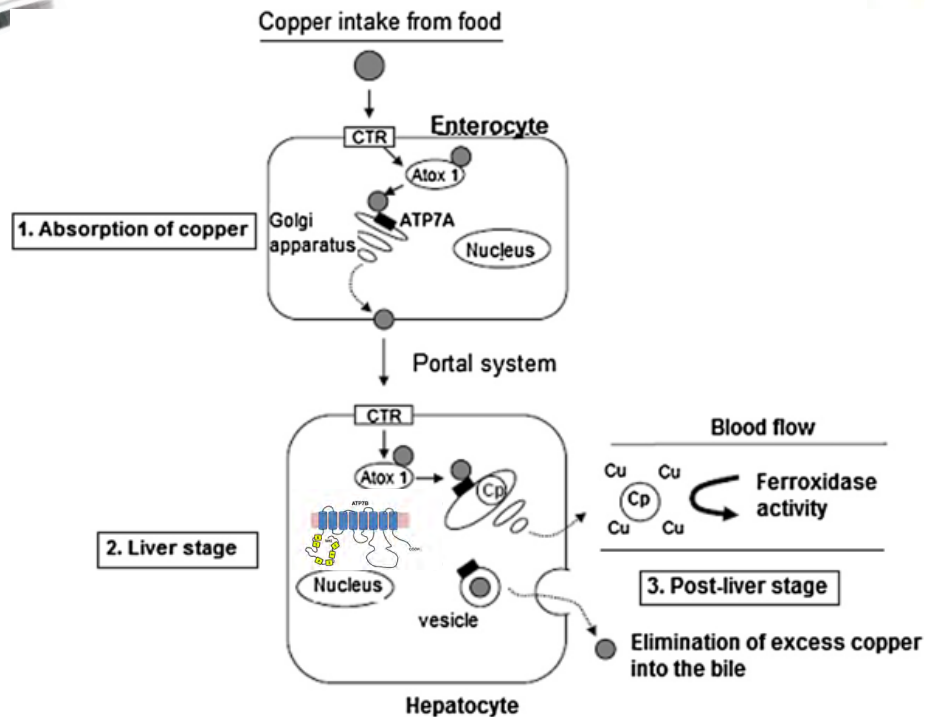
Fisiopatología de la enfermedad



- Enfermedad recesiva
- Mutaciones en cromosoma 7
- Gen *ATP7B*



- Proteína ATP7B
- Ubicua, predominio hepatocitario.



- Limitación para transferencia a Cp
- No excreción biliar > urinario
- Acumulo hepático
- Aumento en suero, afectación extrahep

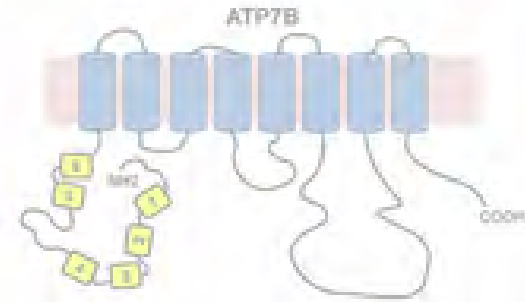
Schilsky M et al, Hepatology 2023

Aproximaciones diagnósticas



- Enfermedad recesiva
- Mutaciones
- Gen *ATP7B*

Genética



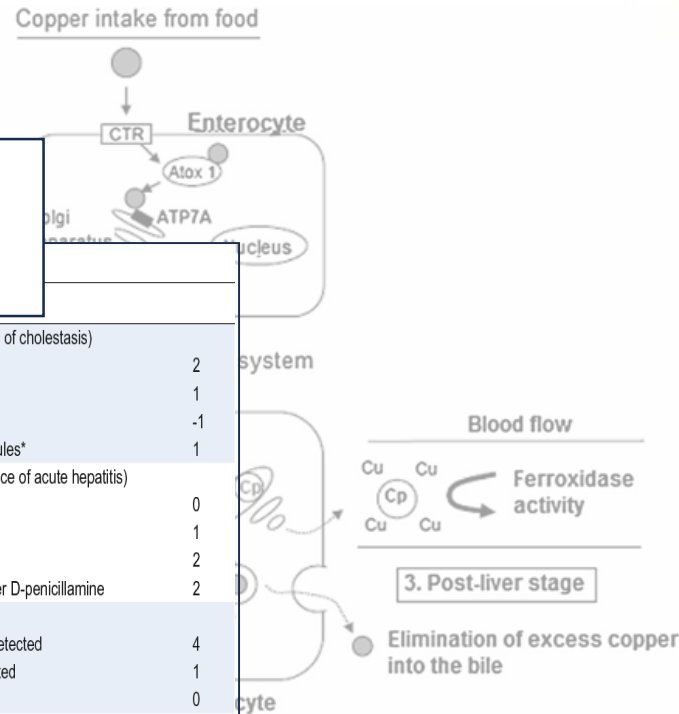
**Péptidos
ATP7B**

- Ubicua, predominio hepatocitario.

Leipzig, 2001
WD si >3

Table 5. Scoring system developed

Typical clinical symptoms at		Liver copper (in the absence of cholestasis)	
KF rings		>5x ULN (>4 µmol/g)	2
Present	2	0.8-4 µmol/g	1
Absent	0	Normal (<0.8 µmol/g)	-1
Neurologic symptoms**		Rhodanine-positive granules*	1
Severe	2	Urinary copper (in the absence of acute hepatitis)	
Mild	1	Normal	0
Absent	0	1-2x ULN	1
Serum ceruloplasmin		>2x ULN	2
Normal (>0.2 g/L)	0	Normal, but >5x ULN after D-penicillamine	2
0.1-0.2 g/L	1	Mutation analysis	
<0.1 g/L	2	On both chromosomes detected	4
Coombs-negative hemolytic anemia		On 1 chromosome detected	1
Present	1	No mutations detected	0
Absent	0		



MT1

Cp baja

Cu intrahep ↑

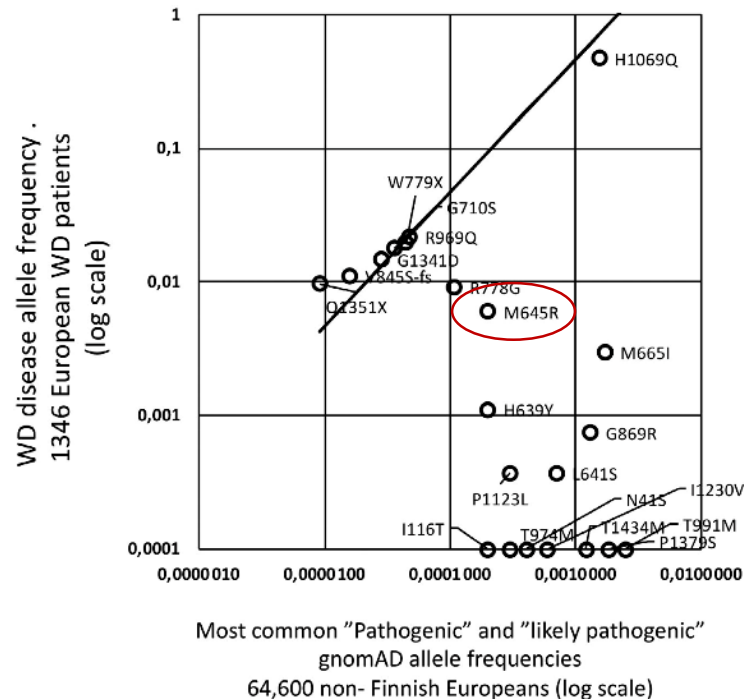
UCE ↑

↑ NCC

- Limitación de la excreción biliar
- No excreción biliar > 5x ULN
- Acumulo hepático
- afectación extrahep

Genética

- Existen > 1000 mutaciones patogénicas reconocidas, con penetrancia variable.
- Actualmente estudio genético requiere secuenciación completa del gen *ATP7B*
- Definir las **mutaciones más prevalentes en nuestro medio** puede ayudar en el dg.

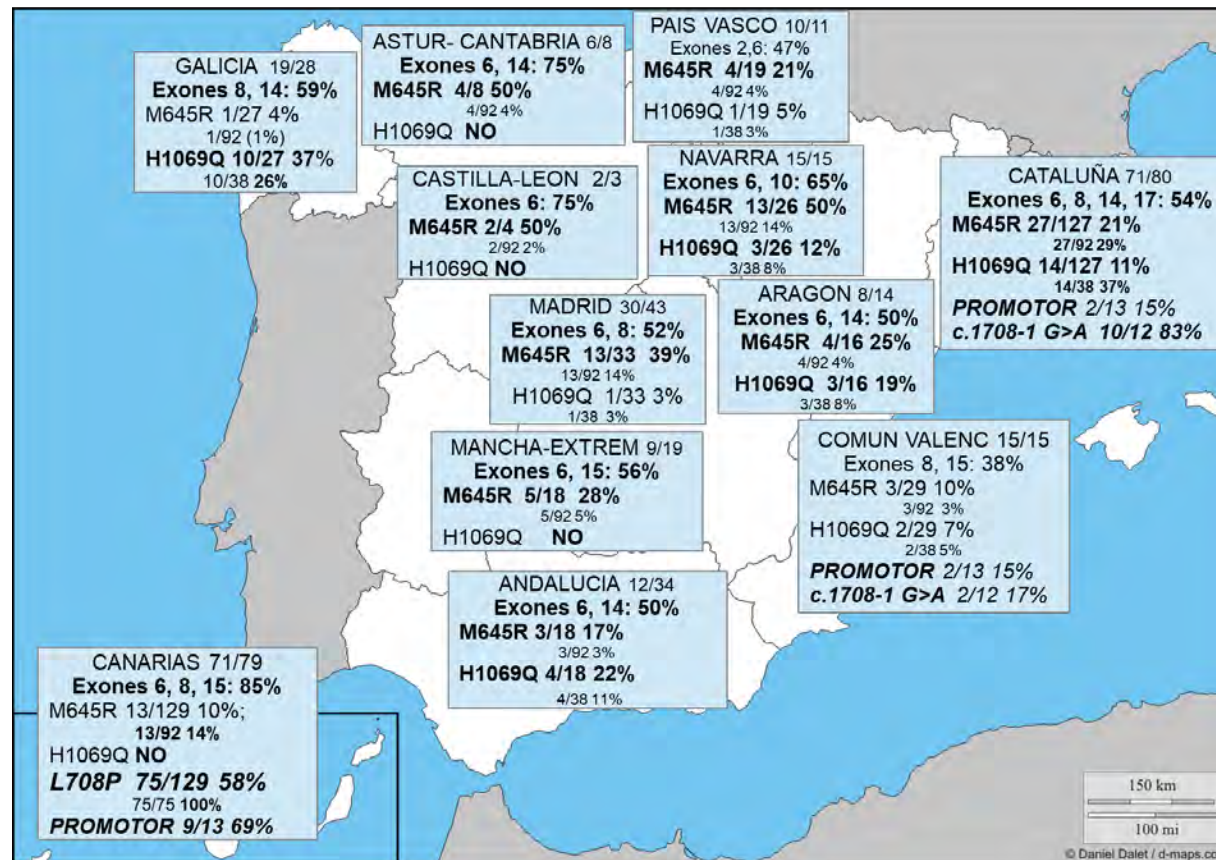


La mutación *Met645Arg* se ha relacionado con fenotipos hepáticos de presentación más tardía y menor penetrancia

Genética



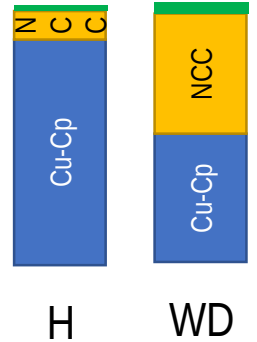
- Importancia de los Registros: **Registro Wilson AEEH**, n=350



- El ejemplo de Gran Canaria: mutación propia - *p.Pro708Leu*
- Mutación europea - *p.H1069Q* – (8.5%), localización en Norte.
- Ubicuidad de *Met645Arg* (mutación española) - predominio en zonas de costa

Alonso-Castellano P, Submitted manuscript

Biomarcadores: NCC



- NCC= non-ceruloplasmin bound copper
- Cálculo de “cobre libre” ($\text{NCC-Cal, } T_{\text{Cu}} - 3.16 \times \text{CP}$) – baja fiabilidad, en desuso

Biomarcador	Cobre intercambiable (CuEX)	Accurate NCC (ANCC)	Alexion NCC (dNCC)
Metodología	HPLC-ICP-MS con EDTA (quelante)	HPLC-ICP-MS	HPLC-ICP-MS
Puntos corte	Población sana (4.1-7.1) mcg/dl; en WD: no conocido	Muy extenso (4-20)?	Desconocido
Ventajas	Uso extendido en España	Más preciso, usado en CHELATE trial (FDA)	Ninguna

Biomarcadores: NCC

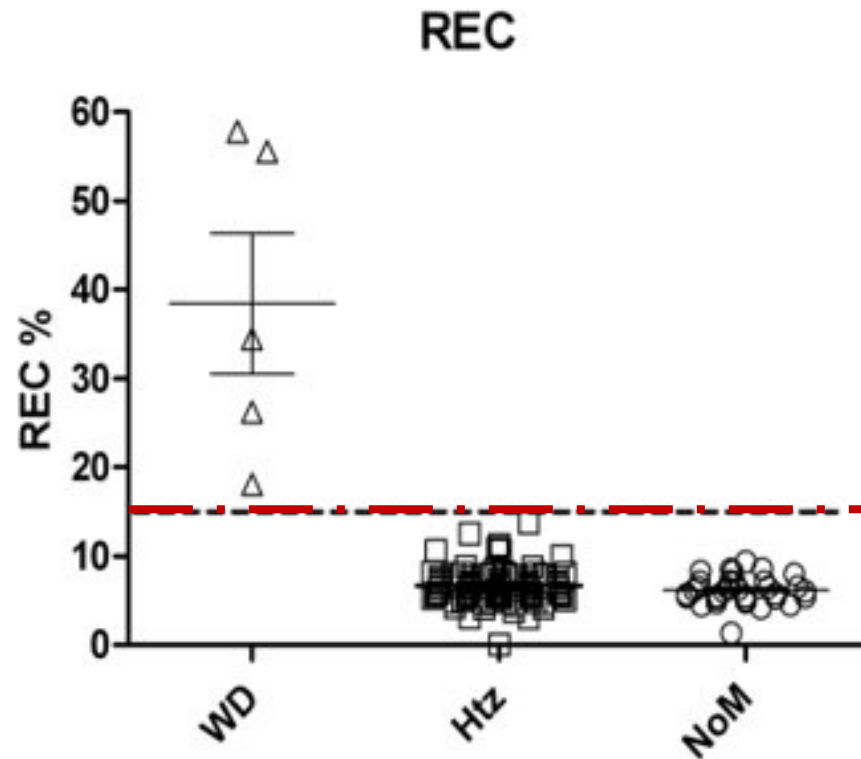
- Ratio del cobre intercambiable = REC (%)
- Evidencia para el diagnóstico de EW, si $\geq 18\%$

El Balkhi et al, Anal Bioanal Chem 2009,

El Balkhi et al, Clinica Chimica Acta 2011

Trocello et al, Mov Disorders 2014

Mariño Z and Molera-Bussoms C, J Inherited Dis 2023

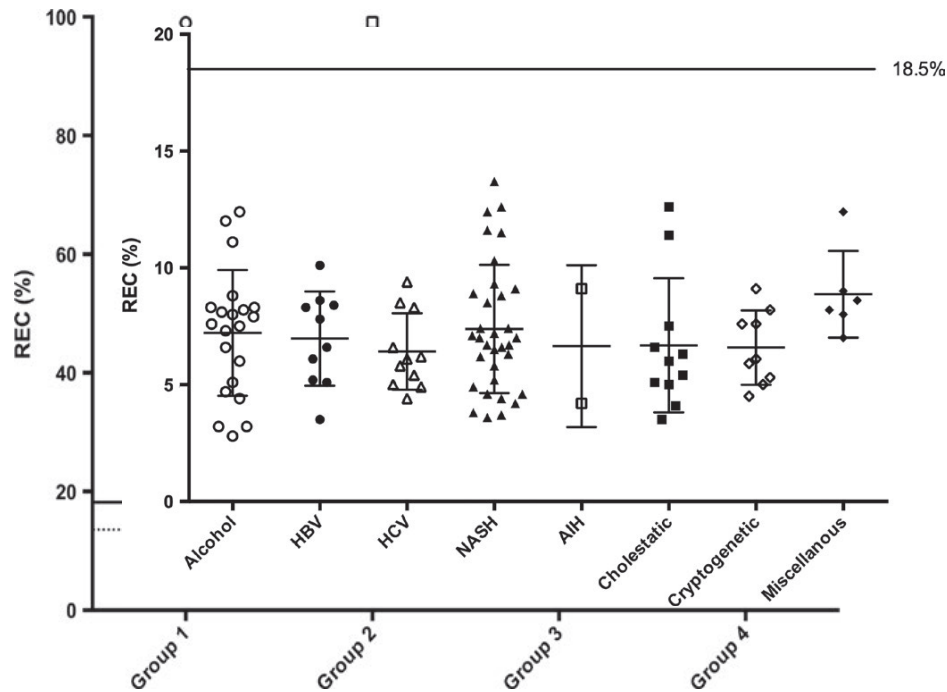


Nuevos datos de vida real sugieren *cutoff* de REC >15% para identificar WD

Desjardins C et al, Aarhus Meeting 2024

Biomarcadores: NCC

- Ratio del cobre intercambiable = REC (%)
- Evidencia en el **diagnóstico diferencial** con otras hepatopatías



Mismos resultados en práctica vida real
(Hospital Clinic Barcelona, n= 341
pacientes)

Biomarcadores: NCC

Samples	N= 341	N (%)
Origin	Liver Unit	326 (95.6%)
	Neurology/ Psychiatry	6 (1.8%)
	Internal Medicine	6 (1.8%)
	Others	3 (0.9%)
Patient	Wilson Disease	60 (17.6%)
	Carrier	6 (1.7%)
	Non-Wilsonian	275 (80.6%)
Reason for REC assessment	Acute hepatitis	51 (15%)
	Chronic liver tests impairment	124 (36.7%)
	Cholestasis	18 (5.3%)
	US or TE impairment	54 (15.8%)
	High ferritin	11 (3.2%)
	Neuropsychiatric symptoms	7 (2.1%)
	Low ceruloplasmin	6 (2%)
	Known WD (diagnosis)	3 (0.9%)
	Known WD (follow up)	57 (16.7%)
	Other reasons	10 (2.9%)

Solo 1 paciente falso positivo: paciente mujer con HAI aguda grave (REC 47%)

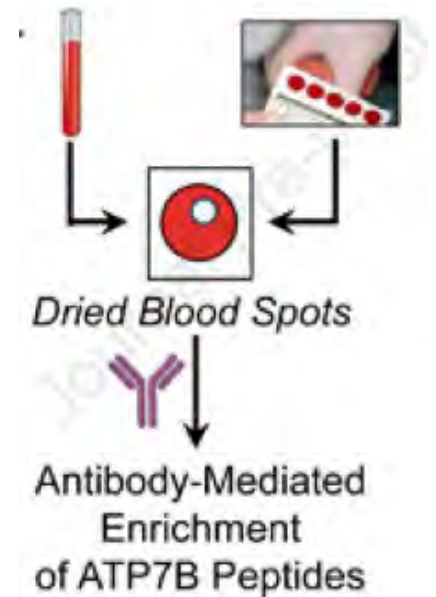
Variable	SE	ESP	VPP	VPN
Cp (≤ 0.2 g/L)*	94.9%	81.1%	53.8%	98.5%
UCE 24h (≥ 100 μ g/dL)**	64.9%	91.3%	82.2%	81%
REC ($\geq 18\%$)	60%	99.6%	97.3%	92.1%
REC ($\geq 15\%$)	70%	99.6%	97.7%	93.9%

* Available in 314; ** Available in 149 patients

Péptidos de ATP7B

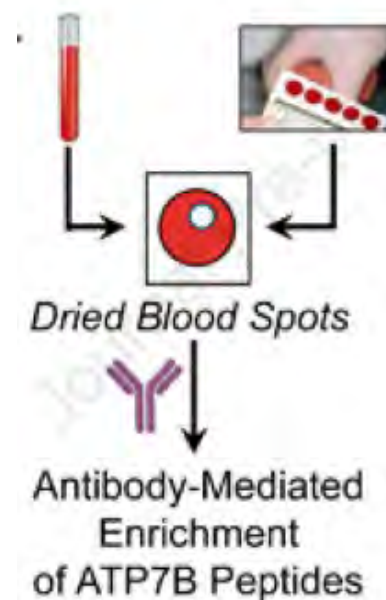
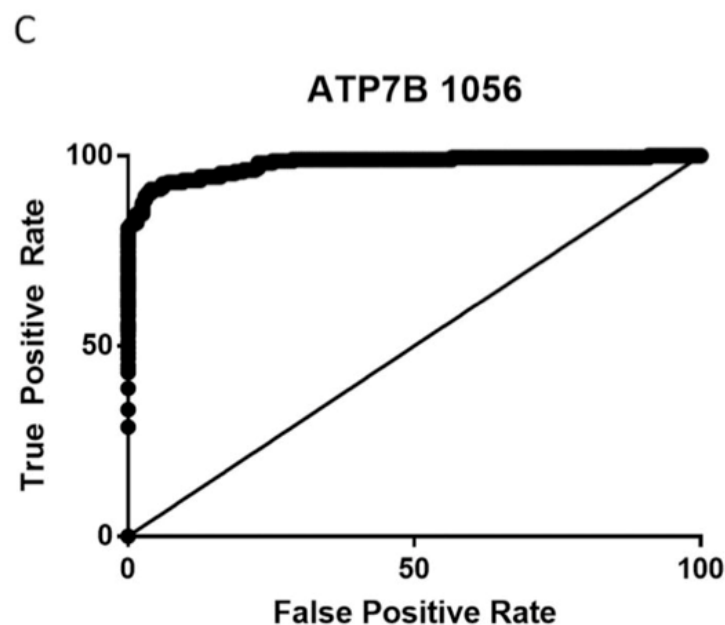
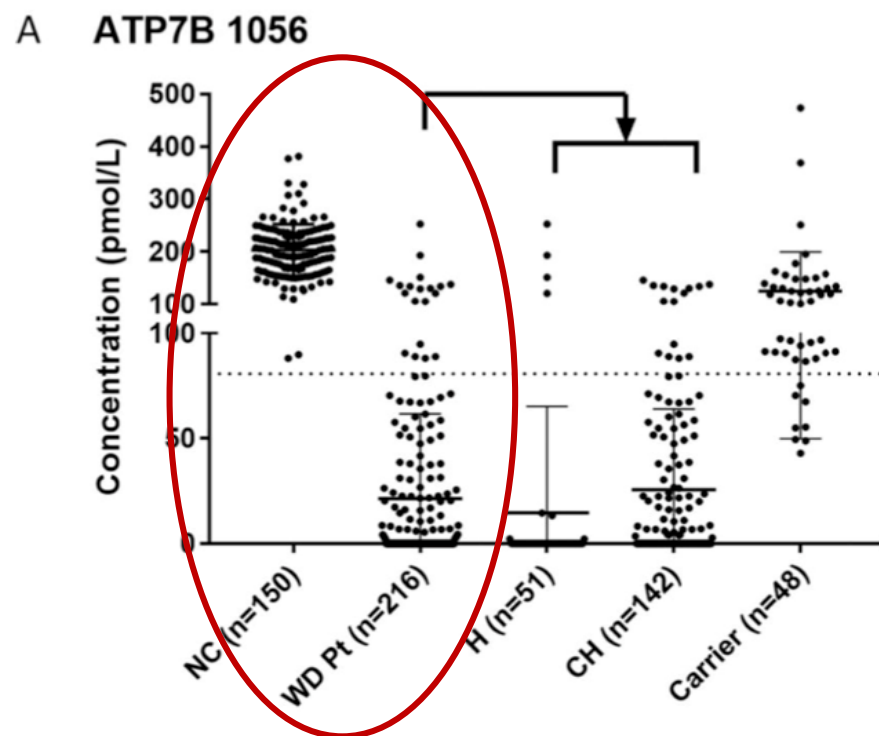
Medición directa en sangre periférica (DBS)

- Surrogates de producción proteica.
- Inclusión de pacientes con diagnóstico de EW (n=216) - Leipzig ≥ 4 .
 - Estudio multicéntrico internacional transcontinental.
- Espectrometría de masas LC-MS/MS enriquecida con reactivos inmunológicos.
 - Uso de anticuerpos anti-péptido ATP7B: útil cuando concentraciones extremadamente bajas y muestras complejas.



Péptidos de ATP7B

Medición directa en sangre periférica (DBS), n=216

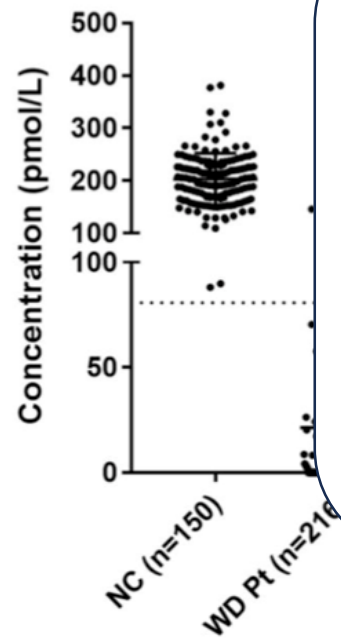


AUC of 0.98
[SE = 0.006, 95% CI: 0.97–0.99, $p < 0.0001$]

Péptidos de ATP7B

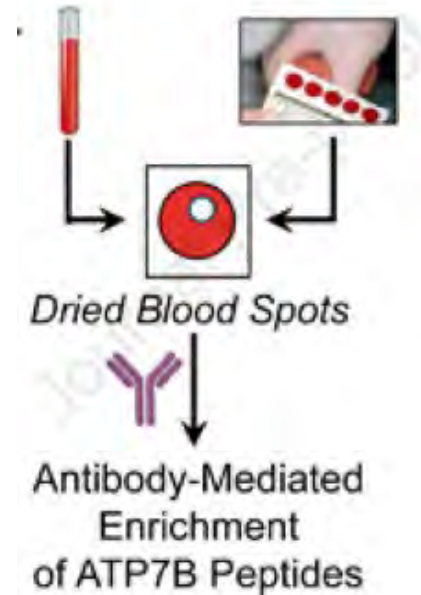
Medición directa en sangre periférica (DBS), n=216

A ATP7B 1056



Actualmente en fase de validación en US como método de screening neonatal (*FDA approval*), evaluando ATP7B 887 & 1056 (4/ 20,000= 0.018%, FP)

Sihoun Hahn, Aarhus presentation 2024



AUC of 0.98
[SE = 0.006, 95% CI: 0.97–0.99, $p < 0.0001$]

Nuevas tinciones: MT1

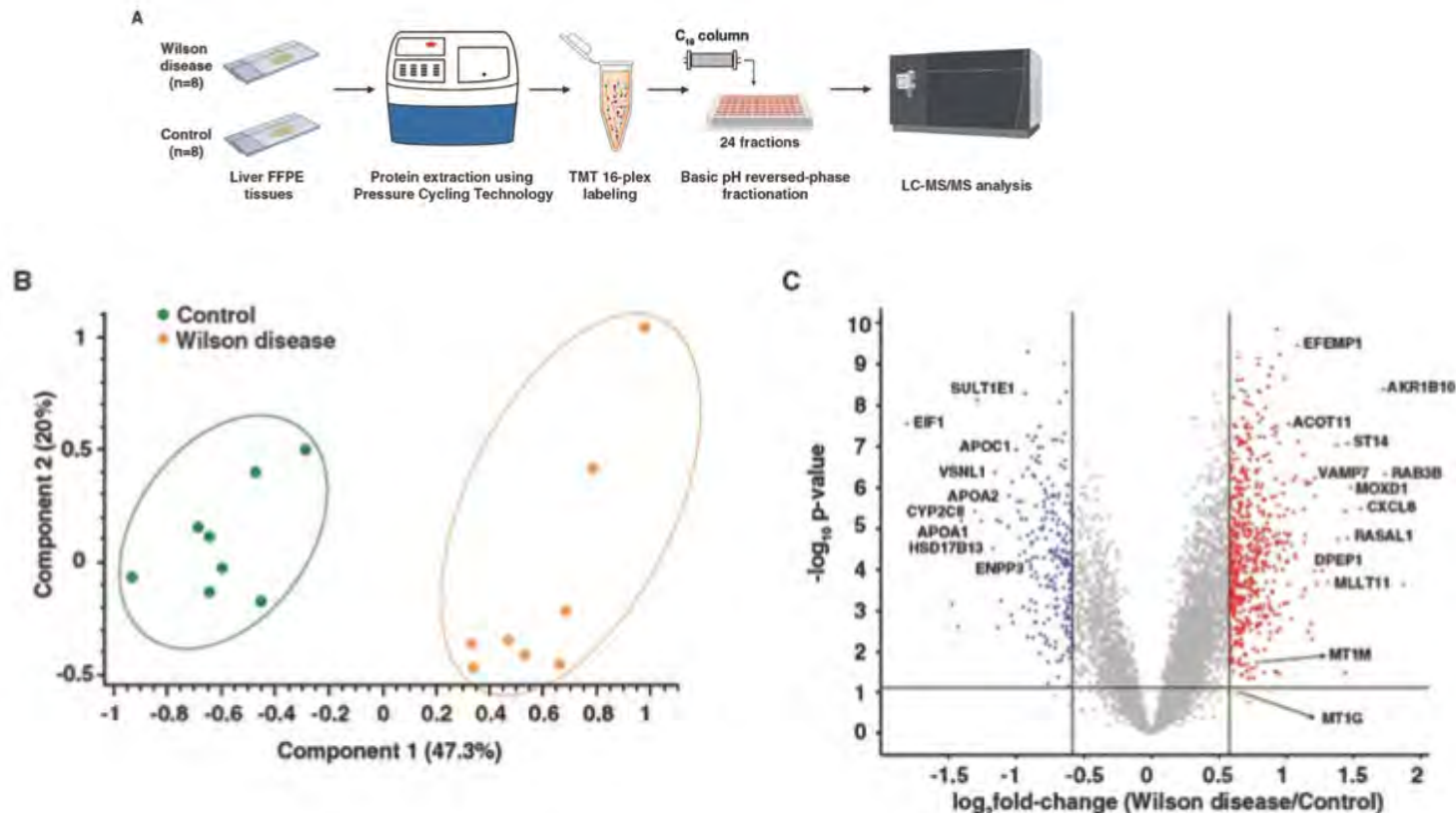
ARTICLE

Metallothionein immunohistochemistry has high sensitivity and specificity for detection of Wilson disease

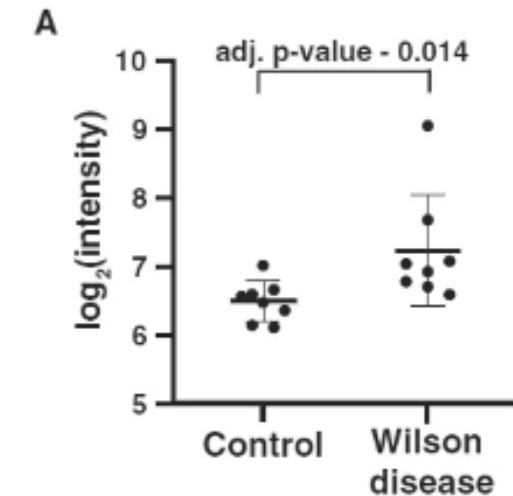
Daniel J. Rowan¹, Kiran K. Mangalaparthi², Smrita Singh^{2,3,4}, Roger K. Moreira¹, Taofic Mounajjed¹, Laura Lamps⁵, Maria Westerhoff⁵, Jérôme Cheng⁵, Andrew M. Bellizzi⁶, Daniela S. Allende⁷, Akhilesh Pandey^{1,2} and Rondell P. Graham^{1,8}

© The Author(s), under exclusive licence to United States & Canadian Academy of Pathology 2021

- **Análisis Proteómico** de tejido - biopsias hepáticas para identificar proteínas expresadas de forma diferencial entre WD (n=8) y controles (n=8)



MT1 overexpression among WD



Nuevas tinciones: MT1

ARTICLE

Metallothionein immunohistochemistry has high sensitivity and specificity for detection of Wilson disease

Daniel J. Rowan¹, Kiran K. Mangalaparthi², Smrita Singh^{2,3,4}, Roger K. Moreira¹, Taofic Mounajjed¹, Laura Lamps⁵, Maria Westerhoff⁵, Jerome Cheng⁵, Andrew M. Bellizzi⁶, Daniela S. Allende⁷, Akhilesh Pandey^{1,2} and Rondell P. Graham^{1,8}

© The Author(s), under exclusive licence to United States & Canadian Academy of Pathology 2021

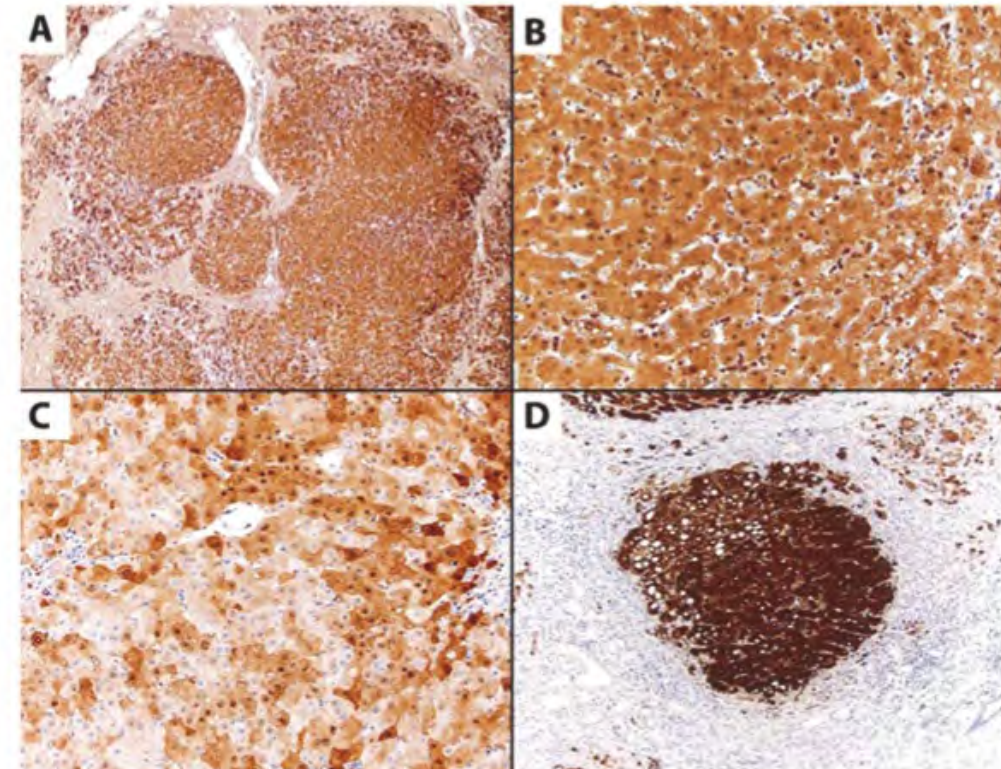
- Propuesta de IHQ basada en MT1 para diagnostico histológico

Table 3. Mean metallothionein IHC H-score by diagnosis.

Diagnosis	N	Mean H-score	Standard deviation	P value (for H-scores vs WD) ^a
Wilson disease	20	261.0	36.4	
All control cases	203	13.6	29.8	<0.0001
Normal liver	20	5.0	6.5	<0.0001
Autoimmune hepatitis	50	13.8	27.3	<0.0001
Chronic biliary tract disease	42	28.0	42.6	<0.0001
Steatohepatitis	51	4.7	15.9	<0.0001
Chronic hepatitis C	40	14.1	32.5	<0.0001

^aP value calculated with Wilcox–Mann–Whitney Test.

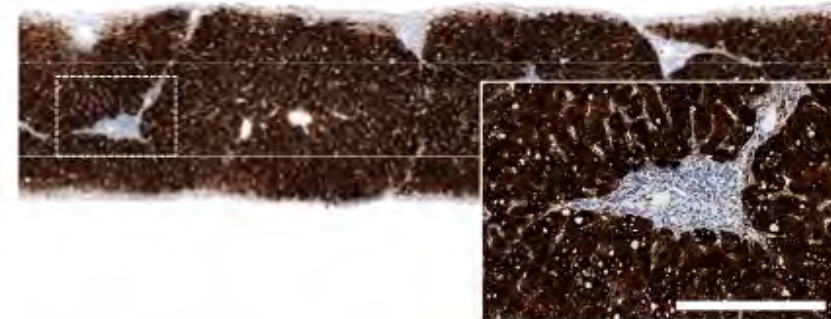
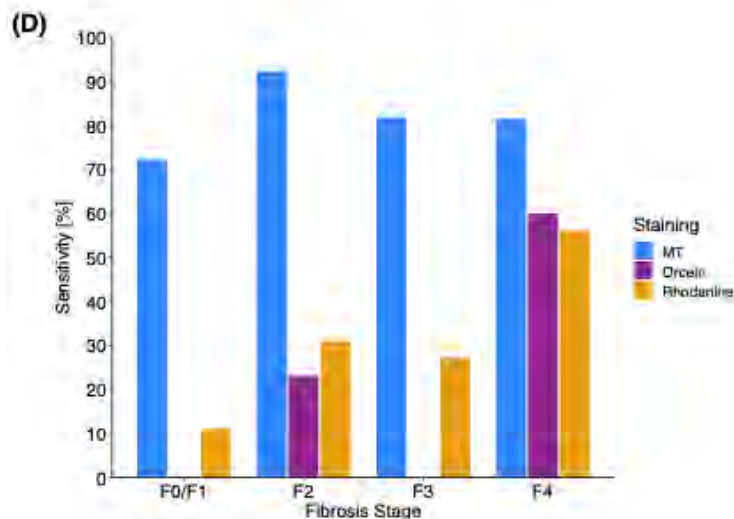
Cutoff	Sensitivity	Specificity
>50% Any staining	100%	91%
>50% Moderate Staining	100%	100%
>33% Strong Staining	75%	100%



Nuevas tinciones: MT1

- Validación en cohorte alemana

- 229 biopsias hepáticas, incluidos 64 pacientes con WD
 - Biopsias positivas si al menos >50% moderado marcaje.
- 81.2%** de las biopsias WD (55/64) vs 3% en biopsias control (5/160), $p < 0.01$
 - Falsos positivos: 1 PSC, 3 colangitis secundarias, 1 colestasis familiar progresiva
 - Accuracy mejor en naive WD (94%)**



Nuevas tinciones: MT1

Nuestra experiencia (Hospital Clínic Barcelona), incorporación a clínica habitual

- 20 pacientes con EW vs 29 con MASLD
- Tinción ciega por 2 anatomo-patólogas

Table 3: MT-1 staining, blind histological evaluation			
MT-1 staining (Rowan et al, 2022)	WD (N=20)	MASLD (N=29)	p
No staining (0)	5%	100%	<0.01
Mild staining (+1)	10%	0%	
Moderate staining (+2)	20%	0%	
Intense staining (+3)	40%	0%	
Positive MT-1 staining (%) (considered if >50% moderate/intense)	14 (70%)	0 (0%)	
H-score	205 (137-242)	0	



Excelente discriminación entre entidades

Among **WD patients only** (n=20), no significant differences were observed regarding their baseline characteristics (including received therapy chelators vs zinc) or conventional histological data between those scoring MT-1 positive (n=14) vs MT-1 negative (n=6)



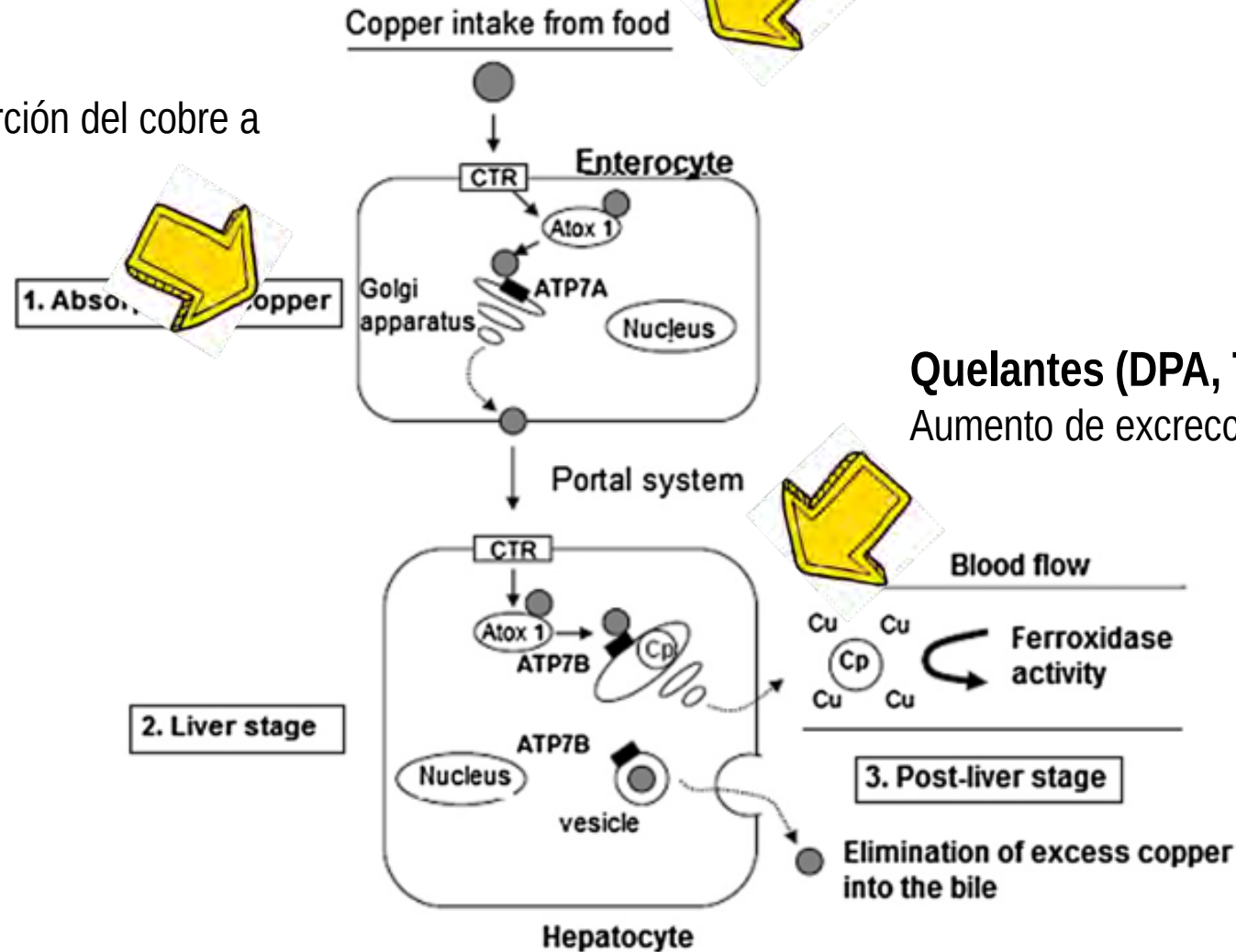
Mejoras en el
tratamiento

Fármacos disponibles

Dieta restrictiva

Sales de Zinc:

disminución de la absorción del cobre a nivel enteral



Nuevos fármacos

Sales de Zinc:

disminución de la absorción del cobre a nivel enteral

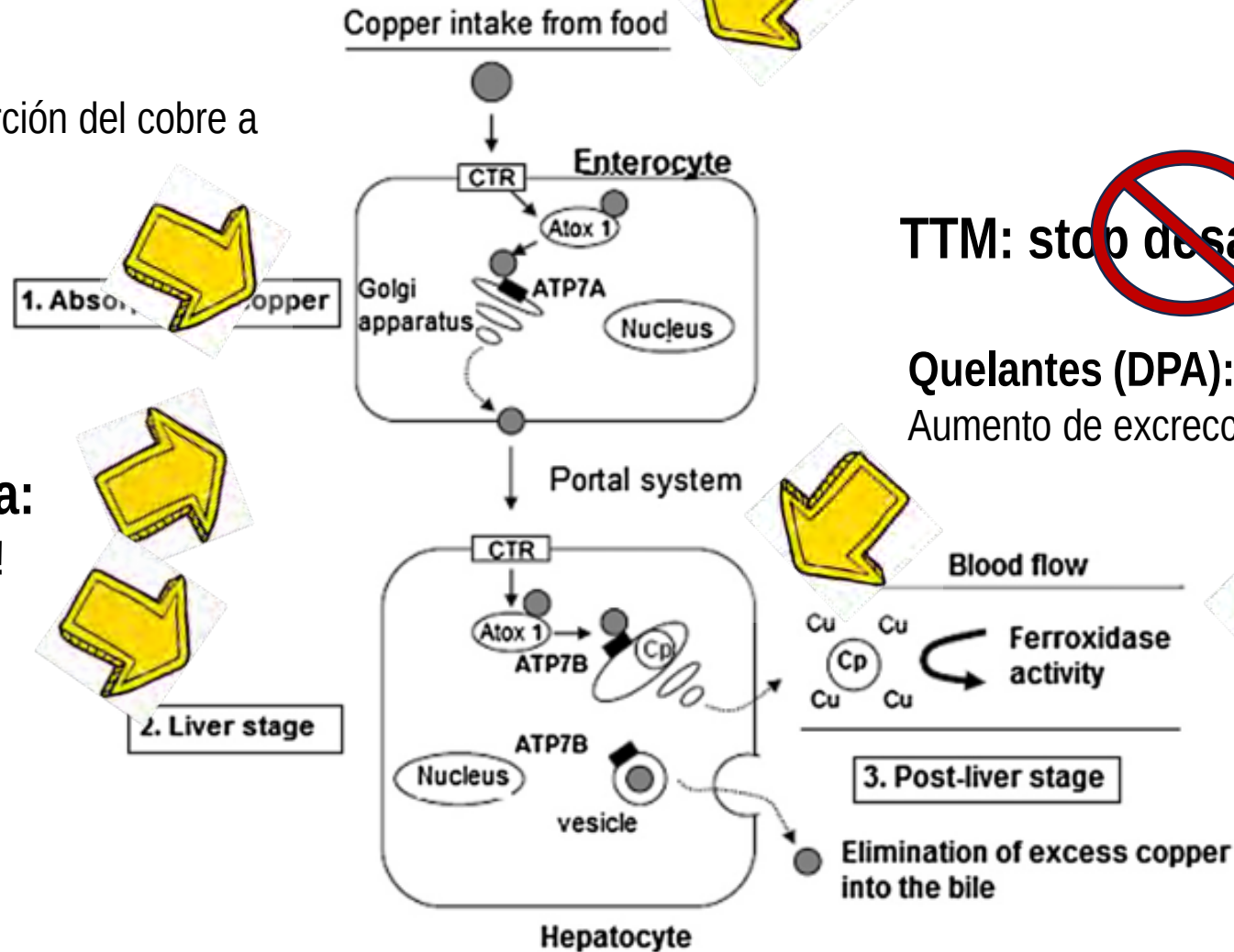
Dieta restrictiva

Terapia Génica AAV

El futuro actual

Trientina:

MOA dual!



TTM: stop desarrollo

Quelantes (DPA):

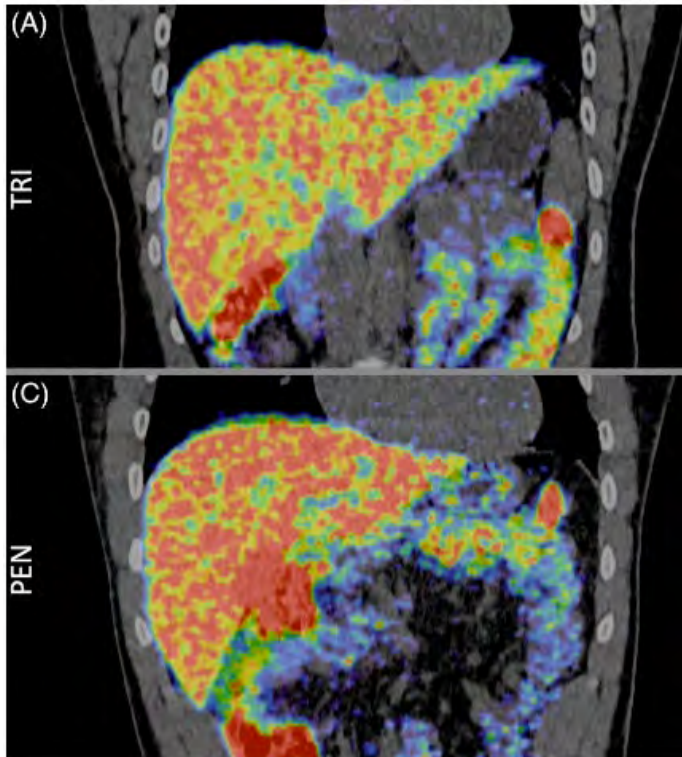
Aumento de excreción urinaria de cobre

Metanobactina

El super quelante!

Trientina, MOA

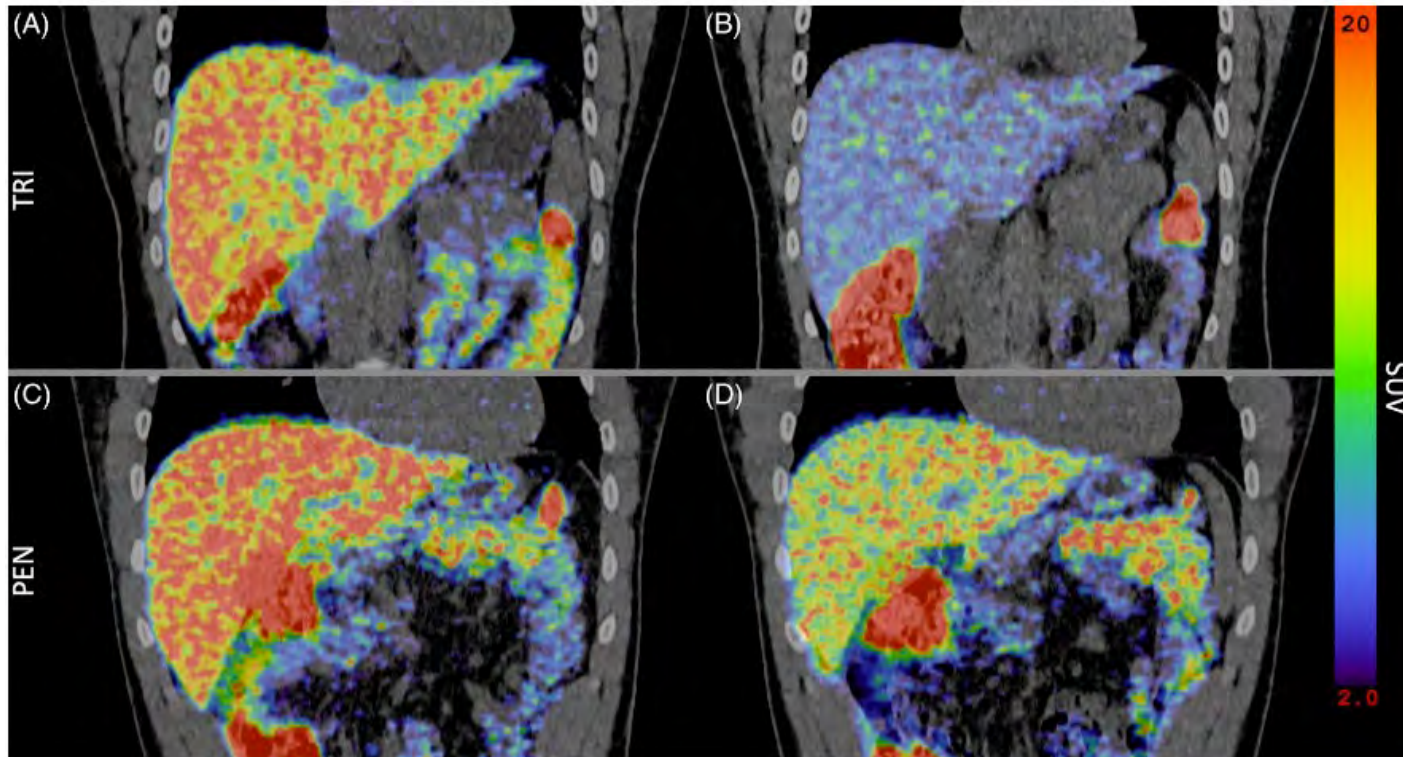
- Uso de PET/CT con Cu64 oral en 16 individuos sanos.
- Administración de DPA (n=8) o TRI (n=8) durante 7 días
- Objetivo: evaluar el efecto de ambos fármacos en la absorción enteral del cobre



A nivel basal, pre-tratamiento, la captación de Cu64 era similar en ambos grupos

Trientina, MOA

- Uso de PET/CT con Cu64 oral en 16 individuos sanos.
- Administración de DPA (n=8) o TRI (n=8) durante 7 días
- Objetivo: evaluar el efecto de ambos fármacos en la absorción enteral del cobre



A los 7 días, la captación hepática de cobre en pacientes con TRI se había reducido al menos un 50% sugiriendo efecto dual de limitación de la absorción enteral de cobre

Trientine, MOA

Trientine inhibits intestinal uptake of ^{64}Cu by at least 50% while D-penicillamine has little to no effect on intestinal uptake of ^{64}Cu .

METHODS

- Randomized mechanistic study oral ^{64}Cu study.
- 16 healthy volunteers
- PET/CT examinations after 1 and 15 hours.
- Randomized 1:1 to trientine or D-penicillamine for 7 days.
- Examinations were repeated.

MAIN OUTCOME

- Change in hepatic ^{64}Cu levels, indicating a change in intestinal ^{64}Cu uptake.

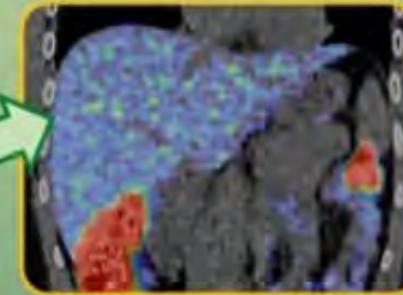
Before treatment.
15 hours after oral
 ^{64}Cu ingestion.



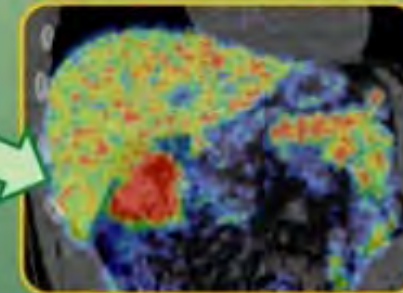
Randomization

After treatment.

Trientine

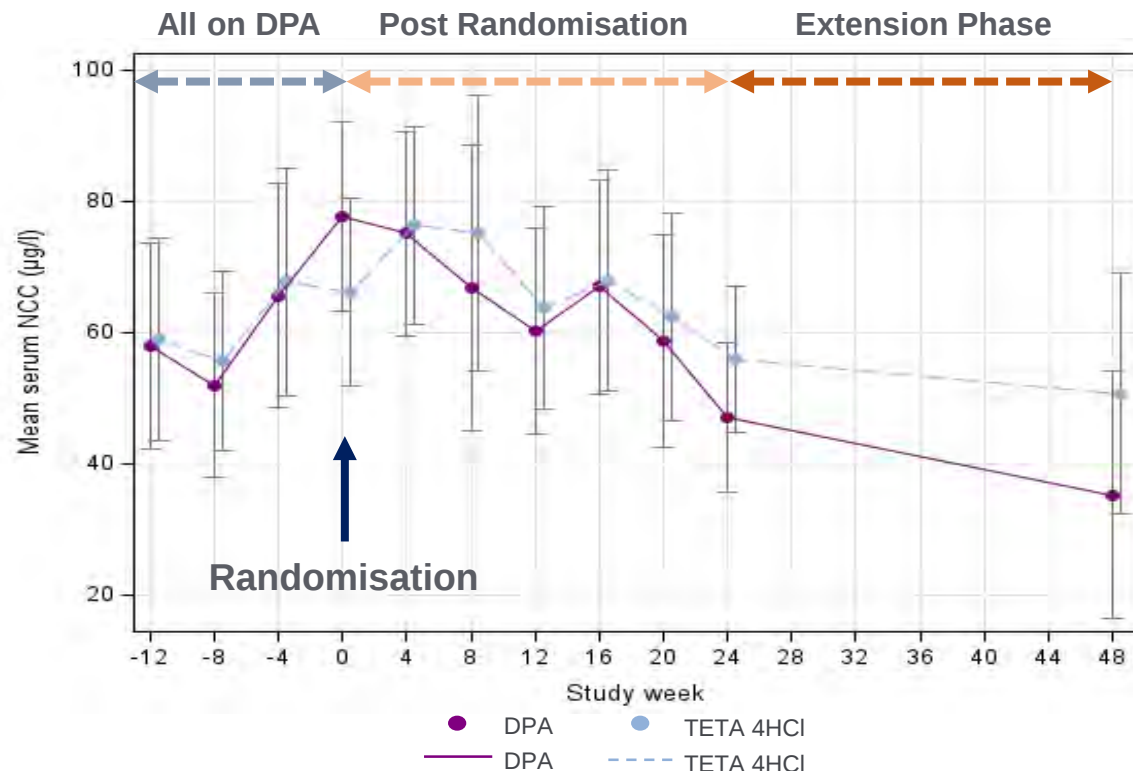


D-penicillamine



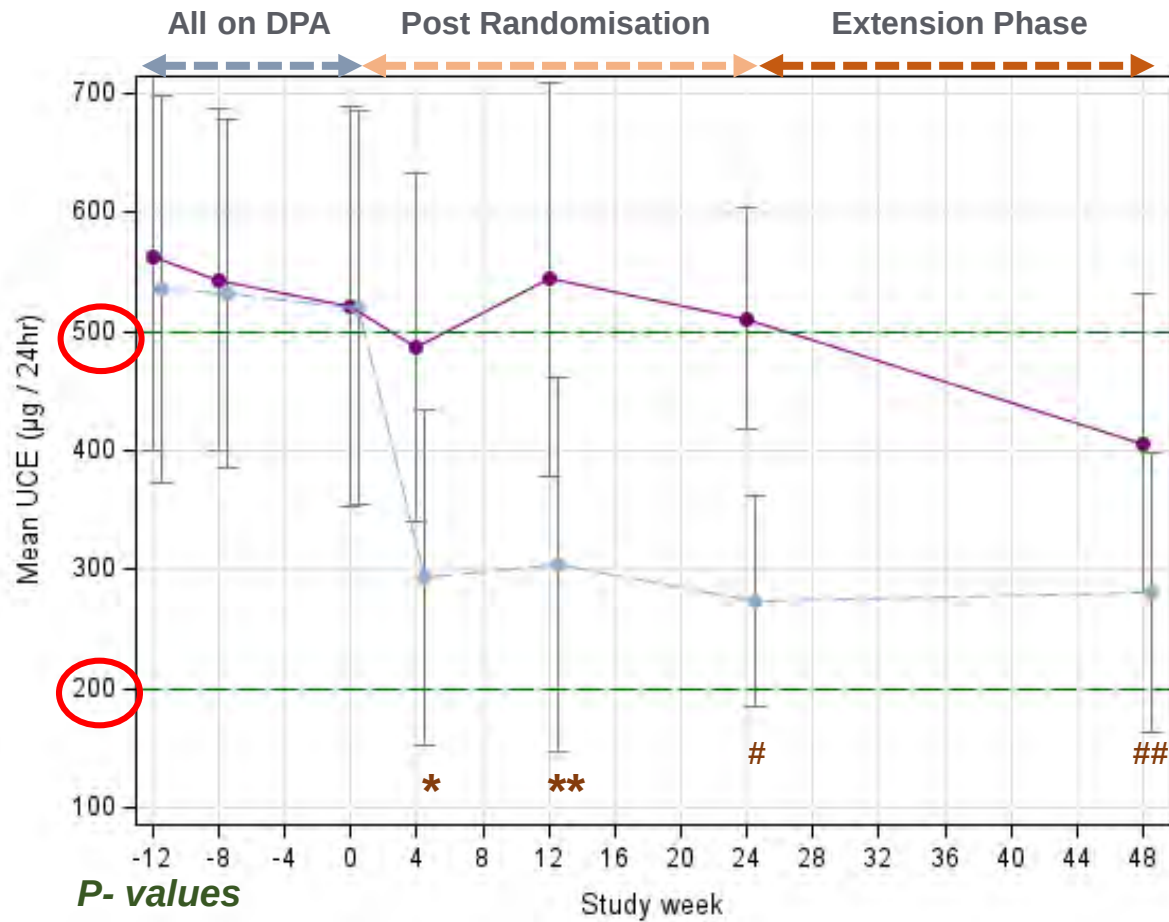
Trientina, TETA-HCL

- Estudio CHELATE: randomizado, internacional, fase III, de no inferioridad entre DPA/TETA, en 53 pacientes con EW en mantenimiento.
- Objetivo primario: dosis estables de NCC-especiación



- Los niveles NCC-Sp fueron equivalentes entre ambos tratamientos.
- Efecto “compliance” del trial refuerza la importancia de la adherencia en pacientes con EW

Trientina, TETA-HCL



P- values

*	0.015
**	0.008
#	0.0005
##	0.047



Recommended
UCE Target Range
200-500 mcg/24 hr

- La cupruria (UCE) fue significativamente inferior en pacientes con TETA vs pacientes en DPA.
- Esto no se acompañó de aumento de NCC y refleja las diferencias propias del MOA de la trientina

TTM, MOA y final de su recorrido

- El tetratiomolibdato (TTM) de bis colina fue un fármaco muy prometedor con gran capacidad quelante
 - especialmente interesante en pacientes neurológicos o presentación aguda, posología óptima.
 - hipótesis de MOA : aumento excreción de Cu a bilis (fisiológico?)
- Estudios de Cu64 PET/CT de absorción (oral) y excreción (IV) en individuos sanos y en pacientes con WD.

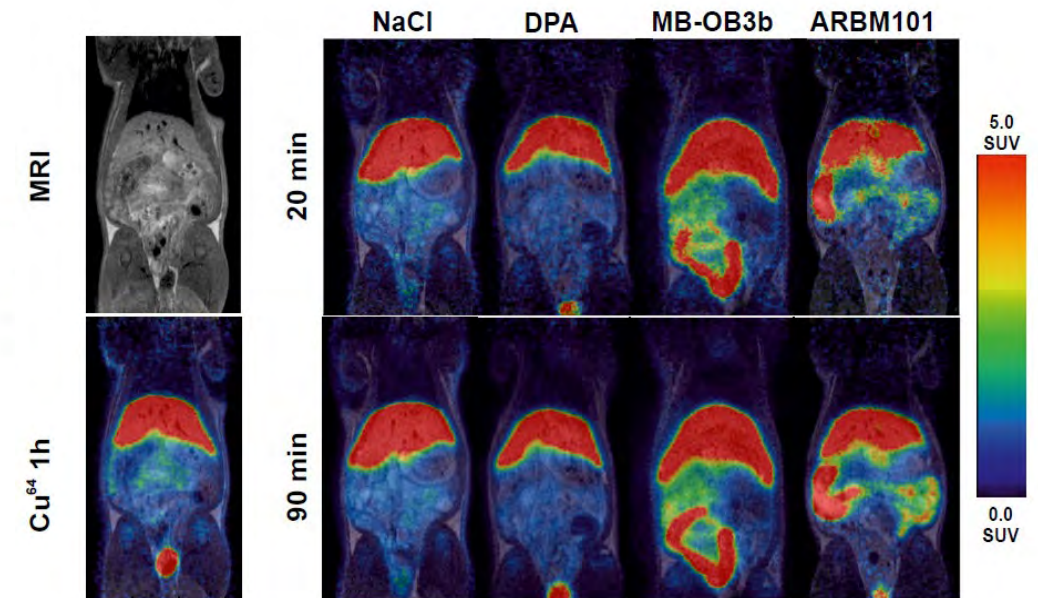
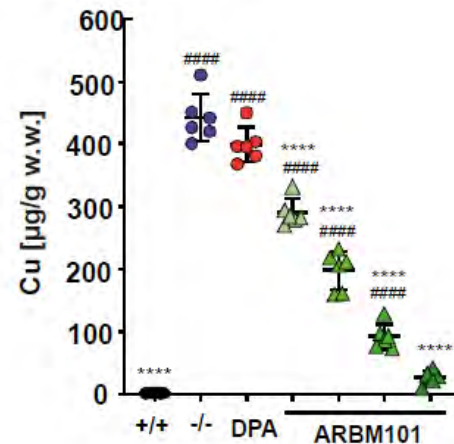
TTM, MOA y final de su recorrido

La compañía (AstraZeneca) paralizó el desarrollo clínico del fármaco (estudios fase III y pacientes con usos compasivos) en 04/ 2023



Metanobactinas

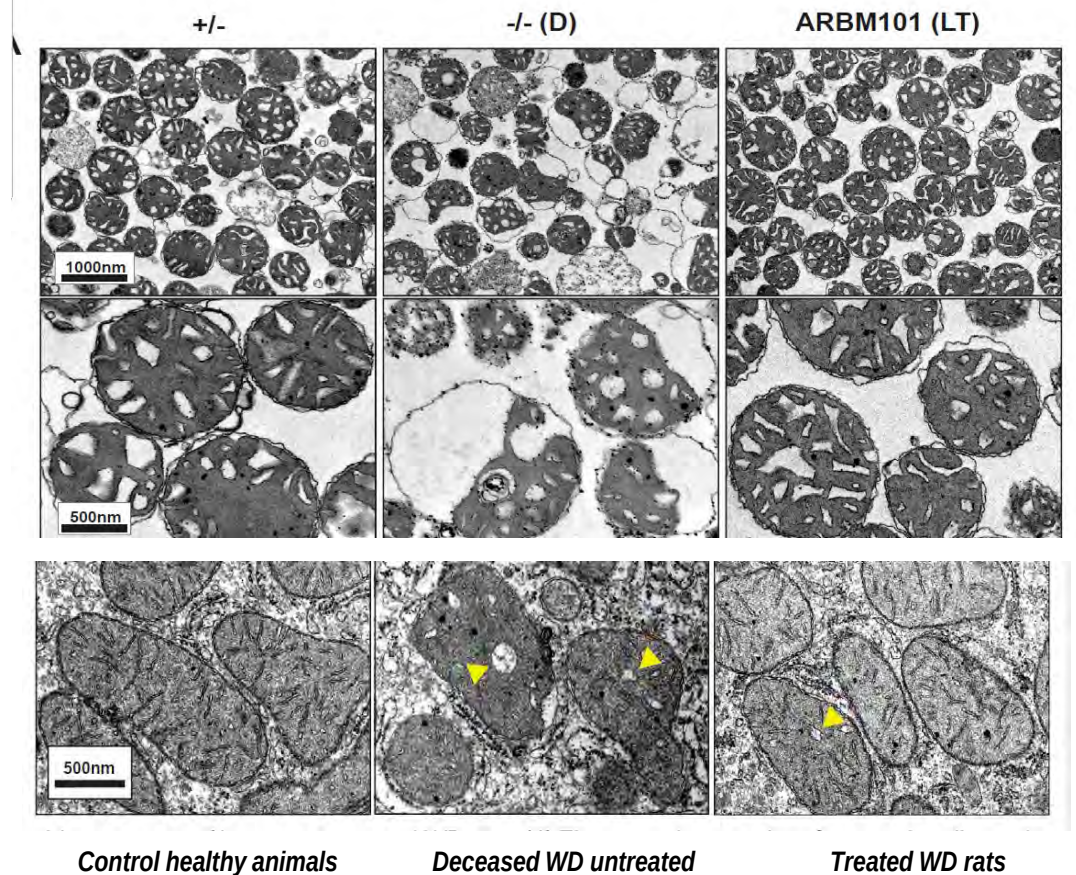
- Productos proteicos de origen bacteriano (bacterias metanotrofas)
- Afinidad excepcional por el cobre ($\sim 10^{20-24} \text{ M}^{-1}$)
- Estudios murinos (ATP7B_{KO}) y celulares han demostrado el efecto rápido y dosis dependiente de las MBs y la restauración del daño celular.



Metanobactinas

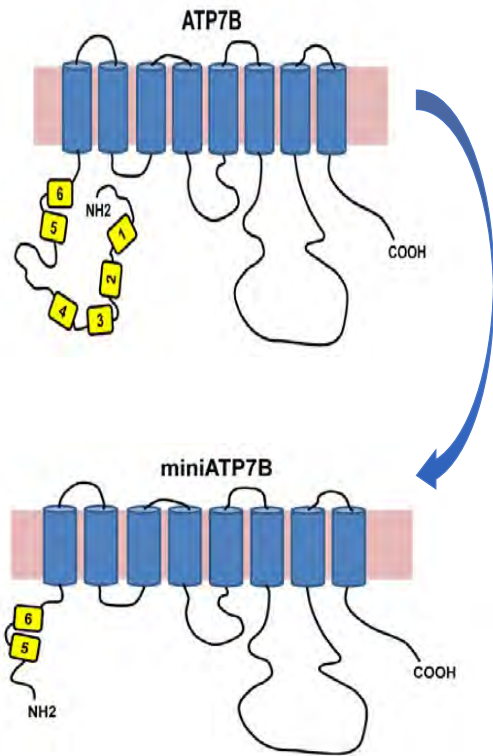
- Tras el tratamiento con metanobactinas, se observa una recuperación de los niveles de estrés celular y de la estructura/ forma mitocondrial celular

Tras los estudios pre-clínicos favorables, actualmente ARBM101 es propiedad de una compañía farmacéutica y ha iniciado su desarrollo en humanos, pendiente estudio fase I de seguridad en 2024-2025

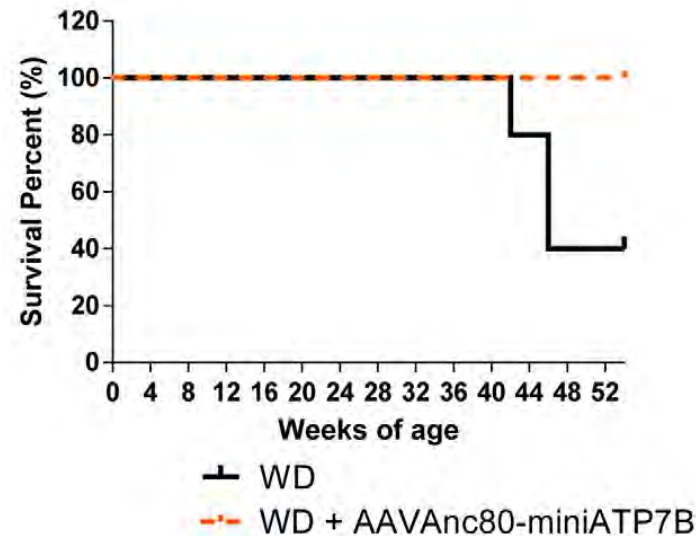


Terapia génica

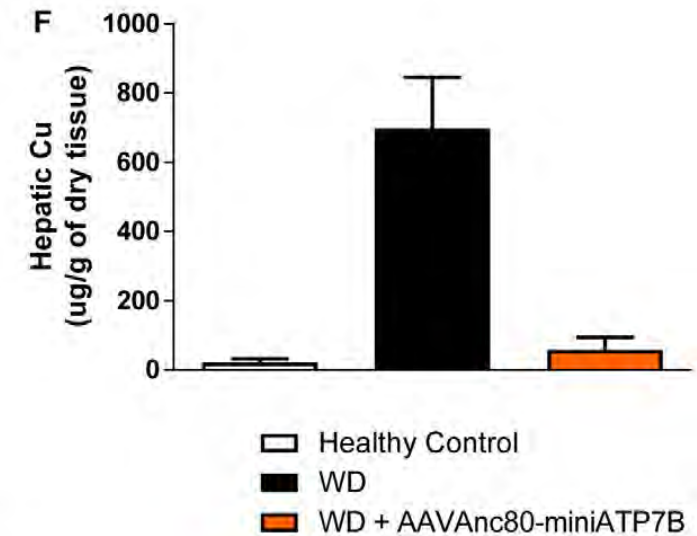
- Basada en tecnología (AAV) con miniATP7B funcional.



Generación sintética de proteína truncada ATP7B con funcionalidad conservada



Inyección por medio de vector AAV



Terapia génica

Se esperan los primeros resultados de seguridad en
ILC 2024/ AASLD 2024

Actualmente existen 2 EC fase I-III reclutando pacientes con EW



ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04537377
Recruiting (multicéntrico)



ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04884815
Recruiting (multicéntrico)

Take-home messages

- La EW es una enfermedad difícil de diagnosticar por su baja prevalencia y heterogeneidad.
 - Posible infra-diagnóstico
- Se han desarrollado mejoras en el diagnóstico – especialmente en relación con las metodologías NCC – que favorecen la detección de nuevos casos.
 - La sospecha clínica sigue siendo el pilar fundamental.

Take-home messages

- La EW es una enfermedad difícil de diagnosticar por su baja prevalencia y heterogeneidad.
 - Posible infra-diagnóstico
- Se han desarrollado mejoras en el diagnóstico – especialmente en relación con las metodologías NCC – que favorecen la detección de nuevos casos.
 - La sospecha clínica sigue siendo el pilar fundamental.
- Los nuevos (TETA) y futuros tratamientos (MTB, terapia génica) parecen estrategias de éxito para mejorar la posología y perfil de seguridad de los tratamientos actuales.
 - Su implementación permitirá potencialmente mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes y/o realizar tratamientos individualizados.

Muchas gracias!

zmarino@clinic.cat
@ZoeMario2