

SEMINARSKI RAD
Poremećaji metabolizma bakra

SADRŽAJ

UVOD	1
1. Poremećaji metabolizma bakra	2
2. Stečeni poremećaji metabolizma bakra	2
3. Genetski poremećaji metabolizma bakra	3
3.1. <i>Wilsonova bolest</i>	3
3.1.1. Kliničke manifestacije Wilsonove bolesti	4
3.1.2. Dijagnoza	4
3.1.3. Liječenje	5
3.2. <i>Menkesova bolest i varijante</i>	5
3.2.1. Kliničke manifestacije Menkesove bolesti	6
3.2.2. Dijagnoza	6
3.2.3. Liječenje	6
3.3. <i>Mednik sindrom</i>	7
3.4. <i>Huppke-Brendl sindrom</i>	8
4. Nove terapijske metode	8
5. ZAKLJUČAK	9
6. PRILOZI	10
LITERATURA	12

UVOD

Tema *Poremećaji metabolizma bakra* za mene je bila veoma zahtjevna, ali istovremeno i inspirativna. Moje prethodno znanje o navedenoj temi bilo je veoma skromno. Sadržaji, odnosno informacije sa kojima sam se susrela u svom istraživanju, djelovali su pomalo zbunjujuće. Ovdje prije svega mislim na različite pristupe u klasifikaciji analiziranih poremećaja metabolizma bakra.

Naučna literatura koja mi je bila dostupna negirala je neka moja prethodna ubjeđenja o metabolizmu bakra, a sa druge strane obogatila moje saznanje zasnovano na naučnim činjenicama.

Cilj rada je bio prikazati karakteristike *Poremećaja metabolizma bakra*. Rad se može figurativno podijeliti u nekoliko djelova, i tako posmatrati, upravo onako kako je teklo moje istraživanje literature i drugih izvora na zadatu temu.

U cilju što boljeg razumijevanja date teme, napravila sam kratak uopšten osvrt na značaj bakra u ljudskom organizmu, takođe ukazala na osnovne karakteristike metabolizma bakra, posebno obrazložila podjelu poremećaja metabolizma bakra.

Detaljnije sam analizirala nekoliko segmenata/pitanja u okviru prethodno navedenih cjelina (karakteristike bolesti, kliničke manifestacije, dijagnoze, liječenje i nove terapijske momente).

Evidentno je da postoji veliki broj otvorenih, veoma zanimljivih pitanja, koja mogu biti tema nekih i mojih budućih zanimanja i istraživanja.

1. Poremećaji metabolizma bakra

Bakar je važan oligoelement za ljudski organizam, potreban za važne metaboličke procese poput ćelijskog disanja, sinteze neurotransmitera, stvaranja nekih peptidnih hormona i vezivanja slobodnih radikala. Takođe je bitan dio spojeva poput elastina, kolagena i keratina, te učestvuje u stvaranju melanina i održavanju homeostaze gvožđa u ćeliji. Iako je esencijalni metal u tijelu, bakar može biti i jako toksičan za organizam. U tijelu se nalazi u dva oksidirana oblika Cu(I) i Cu(II). Prelaz između ova dva oblika osnova je enzimskih reakcija potrebnih za gore navedene procese, no isti proces može rezultirati oslobađanjem slobodnih radikala koji negativno utiču na život ćelije. Zdrava odrasla osoba mora dnevno unijeti 1-2 mg bakra u organizam [1]. Dio unijete količine apsorbira se, najvećim dijelom u tankom crijevu, u obliku rastvorljivih kompleksa sa L-aminokiselinama i proteinom tipa metaloproteina. U cirkulaciji, bakar se vezuje za albumin koji ga prenosi u jetru, gdje se deponuje vezan za metalotionein. U kompleksu sa metalotioneinom bakar je netoksičan i služi kao mjesto privremenog skladištenja bakra ili kao donor za sintezu proteina plazme ceruloplazmina. Iz jetre se otpušta u cirkulaciju, gdje se transportuje vezan za ceruloplazmin i u eritrocitima. Oko 95 % od ukupne količine bakra koja cirkuliše u plazmi, sadržana je u strukturi ceruloplazmina, a ostatak bakra nestabilno je vezan za albumin i aminokiseline i naziva se slobodni bakar. Vezan za ceruloplazmin distribuira se do ćelija i organa kojima je potreban: u jetru, bubrege, srce, mozak, mišiće i kosti. U normalnim uslovima, ćelije koriste samo mali dio unijetog bakra za svoje funkcionisanje, a ostali dio predstavlja nepotrebnii višak koji se izlučuje uglavnom putem žuči, a znatno manje urinom i preko kože. Metabolizam bakra kod ljudi prikazan je u Prilogu 1 [2].

Za pravilno funkcionisanje organizma potrebna je regulacija koncentracije bakra u organizmu. I nedostatak bakra i njegov višak dovode do niza poremećaja. Do neravnoteže u koncentraciji bakra u organizmu dovodi ili njegov nepravilni unos ili neki genetski poremećaj.

Prema tome, poremećaji metabolizma bakra grubo mogu da se podijele na stečene i genetske.

2. Stečeni poremećaji metabolizma bakra

Iako je bakar u velikim dozama otrovan za organizam, trovanje bakrom putem hrane vrlo je malo vjerovatno. Opasnost od trovanja bakrom može uzrokovati veći unos bakra,

koji je moguće postići suplementacijom visokim dozama ili kontaminacijom bakrom u proizvodnji ili metalnoj industriji. Doze bakra u suplementima koje prelaze 10 mg na dan prije svega predstavljaju opasnost za oštećenje jetre, a dužim uzimanjem rezultuju i proizvodnjom abnormalnih eritrocita, opštom slabošću i mučninama.

Mada je ozbiljan nedostatak bakra rijetka pojava, nije rijetko da ljudi imaju granične ili suboptimalne količine bakra. Simptomi ozbiljnog nedostatka bakra u organizmu su promjene u pigmentaciji kose i kože, nepravilnosti i deformacije skeleta i vezivnog tkiva, reproduktivni problemi, pogoršana funkcija nervnog tkiva. Čest unos suplemenata cinka, visoke doze vitamina C ili gvožđa mogu doprinijeti ili uzrokovati manjinski status bakra u organizmu. Hipohromna anemija u prisustvu normalnih serumskih koncentracija feritina klinički je pokazatelj marginalnog nedostatka bakra u organizmu. Ova anemija se razvija kao rezultat poremećaja u korišćenju gvožđa.

3. Genetski poremećaji metabolizma bakra

Genetski uslovljena oboljenja koja remete metabolizam bakra i dovode do teških poremećaja u funkcionisanju ljudskog organizma su: Wilsonova bolest, Menkesova bolest i varijante, Mednik sindrom i Huppke-Brendl sindrom. Poremećaj homeostaze bakra je glavna karakteristika ovih bolesti.

3.1. Wilsonova bolest

Wilsonova bolest (hepatolentikularna degeneracija) nasljeđuje se autozomno recesivno. Zastupljena je širom svijeta sa procijenjenom prevalencom otprilike 1:30000 živorođenih u većini populacija [3]. Uzrok bolesti je mutacija gena ATP7B koji se nalazi na hromozomu 13. Gen kodira sintezu transportnog proteina P-tip adenozintrifosfataze (ATPaze) čija je uloga učešće u transmembranskom transportu bakra u hepatocitima. Nedostatak ili nedovoljna funkcija ATP7B proteina dovodi do smanjenog izlučivanja bakra u žuč, što dovodi do akumulacije bakra u jetri i oštećenja hepatocita. Osim toga, nedostatak proteina onemogućava inkorporaciju bakra u ceruloplazmin. Zbog toga jetra proizvodi i luči ceruloplazmin bez bakra, što rezultira smanjenom koncentracijom ceruloplazmina i povećanjem nivoa slobodnog bakra u cirkulaciji i vezanog za albumin. Bakar je za albumin vezan slabim vezama, što omogućava njegovo taloženje u drugim organima, prvenstveno mozgu, bubrezima, rožnjači, kostima i zglobovima [4]. Poremećaj homeostaze bakra kod pacijenata sa Wilsonovom bolešću dat je u Prilogu 2 [2].

3.1.1. Kliničke manifestacije Wilsonove bolesti

Kod pacijenata u ranijem periodu života Wilsonova bolest manifestuje se jetrenim simptomima, dok su mutacije koje se prezentuju kasnije obično povezane sa neurološkom simptomatologijom, a tok bolesti i ishod su teži. Uopšte, Wilsonova bolest se može javiti u bilo kom periodu, ali većina pacijenata ipak je između 6. i 12. godine sa povišenim jetrenim enzimima ili tokom adolescencije i ranog odraslog perioda sa neurološkim ili psihijatrijskim smetnjama. Fulminantni oblik bolesti češći je kod ženskog pola, ali samo u odraslom periodu [5].

Jetreni simptomi: Ciroza, hronični hepatitis i fulminantna insuficijencija jetre su tri glavna oblika hepatične forme bolesti. Početna faza ciroze može biti bez simptoma sa normalnim funkcionalnim testovima jetre.

Neurološki i psihijatrijski simptomi: Najčešći rani simptomi su dizartrija, tremor, skandiran govor, ukočenost udova i muskulature lica, nevoljni pokreti, povećano lučenje pljuvačke i otežano gutanje hrane i tečnosti. Uz promjene ponašanja, psihijatrijske manifestacije uključuju i depresiju, anksioznost, čak i psihoze.

Ostali simptomi: Zahvaćenost bubrega može se prezentovati aminoacidurijom ili nefrolitijazom. Koštane abnormalnosti uključuju preranu osteoporozu i artritis. Mogu se javiti i kardiomiopatija, pankreatitis, hipoparatiroidizam, neplodnost ili ponavljajući spontani pobačaji.

Kayser-Fleischerov prsten je tamnosmeđa pigmentacija na periferiji rožnjače. Nastaje zbog taloženja bakra u Descemetovoj membrani rožnjače, Prilog 3 [6]. Rijetko se nalazi kod pacijenata sa izolovanom prezentacijom jetrenih bolesti.

3.1.2. Dijagnoza

Prilikom postavljanja dijagnoze Wilsonove bolesti nema obrade koja će sa sigurnošću potvrditi ili odbaciti dijagnozu. Dijagnoza se temelji na smanjenoj vrijednosti ceruloplazmina u serumu, povećanoj vrijednosti bakra u dvadesetčetvoročasovnom urinu, te određivanju vrijednosti bakra u tkivu jetre. Nerijetko, kada se i nakon svih ovih pretraga ne može sa sigurnošću potvrditi bolest, pribjegava se genetskom testiranju na najčešću mutaciju u određenim krajevima. Egzaktne laboratorijske vrijednosti ovih pretraga do danas su stalni predmet reevaluacija. Prisustvo neurološke simptomatologije uz odgovarajući MR nalaz, te prisustvo Kayser-Fleischerovog prstena rijetke su prilike kada je postavljanje dijagnoze jednostavnije.

3.1.3. Liječenje

Liječenje je doživotno, a izbor lijeka zavisi od simptoma bolesti i laboratorijskih nalaza. Kod pacijenata s teškim oštećenjem jetre ili koji ne odgovaraju na medikamentnu terapiju, neophodna je transplatacija jetre.

Penicilamin djeluje tako što mobilize bakar iz jetre i drugih skladišta, te dovodi do njegove ekskrecije urinom. Najčešće nuspojave su osipi, proteinurija, depresija koštane srži i sistemske kolagene bolesti. Kod pojedinih neuroloških pacijenata dovodi do pogoršanja neurološkog stanja.

Trientin se koristi kao zamjena za penicilamin kod pacijenata koji ga ne podnose. Nuspojave su takođe jednake (najčešća je proteinurija), ali im je manja učestalost.

Cink (cinkov sulfat i cinkov acetat) ometa apsorpciju bakra iz crijeva, a utiče i na pojačan rad metalotioneina u hepatocitima. Može omesti apsorpciju gvožđa i uzrokovati dispeptične smetnje.

Tetratiomolibdat se uglavnom koristi kao početna terapija kod pacijenata sa neurološkom prezentacijom bolesti. Nakon njegove apsorpcije, u krvi se spaja sa slobodnim bakrom i albuminom. Bakar tada više ne može ući u ćelije i na taj način se titrira toksični udio bakra. Teške propratne pojave utiču na koštanu srž i rast dugih kostiju.

3.2. Menkesova bolest i varijante

Menkesova bolest je X-vezana recesivna (neurodegenerativna) bolest. Javlja se češće kod muške djece jer je potrebna samo jedna kopija recesivnog gena smještenog na X-hromozomu kako bi se bolest mogla razviti. Uzrok bolesti je mutacija gena ATP7A koji kodira sintezu transportnog proteina ATP7A koji ima dvojnu ulogu u ćeliji: vodi bakar do potrebnih enzima za dalje reakcije i odgovoran je za izlazak bakra iz ćelije. Bakar se teško apsorbuje u crijevima, a ono što se apsorbuje teško izlazi iz ćelije, što dovodi do nakupljanja bakra u tankom crijevu i bubrezima, a nedostatak u mozgu i drugim organima. Smanjeno snabdijevanje bakrom smanjuje aktivnost brojnih enzima zavisnih od bakra čija je aktivnost neophodna za strukturu i funkciju kostiju, kože, kose, krvnih žila i nervnog sistema.

3.2.1. Kliničke manifestacije Menkesove bolesti

Prvi simptomi bolesti mogu se uočiti u prvim mjesecima starosti. To je najčešće oštra i lomljiva kosa koja se lako petlja [7]. Prisutno je krivljenje dlake za 180°, kao i transverzalno i longitudinalno razdvajanje. Može biti neobične boje poput bijele, srebrne ili sive, ali u nekim slučajevima kosa je normalnog pigmenta. Isto se može uočiti i na obrvama [8].

Ostali simptomi koji se mogu javiti: epileptični napadi, hipotonija i razvojno odstupanje. Tipična fizionomija za Menkesovu bolest uključuje dugo, tanko lice s debelim „padajućim” obrazima, visoko čelo, velike uši, gotsko nepce sa zakašnjelim izbijanjem zuba, prikazana u Prilogu 4 [9]. Prisutna je i značajna hipotonija trupa, s hiperaktivnim dubokim refleksima. Zglobovi su previše rastegljivi, zbog čega se počinje javljati labava koža na području trupa, pa može doći i do pojave seborejskog dermatitisa.

Ostali simptomi uključuju kognitivno zaostajanje, demijelinizaciju i degeneraciju mozga, što rezultira konvulzijama, zatim labavu, rastegljivu kožu, diverkulum mjehura, motoričke teškoće, slabost i spasticitet u ekstremitetima, različite teškoće sa vidom, abnormalnost vezivnog tkiva, koštane malformacije koje uključuju višestruke kongenitalne malformacije i frakture, kao i osteoporozu.

Životni vijek djece sa Menkesovom bolešću je oko tri godine. Smrt najčešće nastupa zbog infekcije donjih disajnih puteva [8] ili subduralnih hematoma [7].

3.2.2. Dijagnoza

Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničkih i laboratorijskih pokazatelja. Laboratorijski testovi pokazuju: niske vrijednosti bakra i ceruloplazmina u serumu. Svjetlosnom mikroskopijom kose vide se pojedine vlasi torkvirane oko svoje ose, fragmentirane u pravilnim intervalima. Dijagnostika obuhvata i mjerenje akumulacije radioaktivnog obilježenog bakra (^{64}Cu) u kulturi fibroblasta, MR mozga, a posljednji dokaz bolesti je molekularna potvrda mutacije gena ATP7A.

3.2.3. Liječenje

Injekcija bakra (bakar histidin) je efikasna prije pojave neuroloških simptoma. Tretman bakrom povećava količinu (indukciju) metalotioneina u tkivima. Vezanje bakra takođe smanjuje količinu ovog metala raspoloživog za stvaranje slobodnih radikala. Preživljavanje i ishodi se poboljšavaju ranom dijagnozom i liječenjem.

Sindrom okcipitalnog roga je najblaži prepoznati oblik Menkesove bolesti, a većina njegovih kliničkih obilježja povezana je sa poremećajima vezivnog tkiva. Glavno razlikovanje od Menkesove bolesti jeste pojava okcipitalnih rogova – simetričnih izraslina koje se izdižu iz okcipitalne kosti i uperene su prema dolje. Oko 1/3 pacijenata koji imaju blaži oblik Menkesove bolesti u stvari imaju ovaj sindrom (oko 3% svih oboljelih) [10]. Okcipitalni rogovi na rendgenskom snimku lobanje i MR prikazani su u Prilogu 5 [11]. Simptomi su slični onima kod Menkesove bolesti, ali mnogo blaži, pa se dijagnoza najčešće postavlja između pete i desete godine života. Motorni razvoj kasni zbog mišićne hipotonije i često je vezan za veliku nespretnost, intelektualne sposobnosti su ograničene ili se javlja blago zaostajanje. Životni vijek je varijabilan, iako znatno duži nego kod pacijenata sa Menkesovom bolešću. Tretman zamjene bakra je do sada ograničen, ali bi imao koristi ako se predvidi prije razvoja neuroloških simptoma.

Distalna motorna neuropatija je drugi fenotip Menkesove bolesti. To je bolest sa dužim očekivanim životnim vijekom. Oko 5-10% pacijenata pokazuje ovaj blaži fenotip [10-12]. Kod pacijenata kod kojih je bolest prvi put otkrivena, period početka se kretao od 5. do 50. godine, sa sredinom oko 14. godine. Bolest sadrži kliničku i genetsku heterogenu grupu poremećaja koja pretežno utiče na motorne neurone u perifernom nervnom sistemu. Simptomi uključuju slabost distalnih mišića sa uvijenim prstima, deformacijama stopala i smanjenim refleksima dubokih tetiva. Pes cavus deformacija stopala kod 43-godišnjeg pacijenta prikazana je u Prilogu 6 [9].

Kod ovih pacijenata do sada nijesu identifikovane biohemijske abnormalnosti. Iako pacijenti imaju nivo serumskog bakra od 80-100 µg/dl, u liječenju bi mogli imati koristi od zamjene bakra, na osnovu poznatog odnosa između stečenog nedostatka bakra i periferne neuropatije.

3.3. Mednik sindrom

Mednik sindrom nasljeđuje se autozomno recesivno. Mednik predstavlja akronim za sindromsku konstelaciju mentalne retardacije, enteropatije, gluvoće, neuropatije, ihtioze i keratodermije. Uzročni gen za Mednik je *AP1S1* koji kodira sigma 1A, malu podjedinicu adaptorskog proteinskog kompleksa-1 (AP1). AP1 obično posreduje unutarćelijskim prenosom transmembranskih proteina. Mutacije u *AP1S1* utiču na sistemski metabolizam bakra ometanjem prenosa bakar ATP-aze, što rezultuje hipokupremijom, hipoceruloplazminemijom i akumulacijom bakra u jetri, kao kod

Wilsonove bolesti. Oboljenja jetre kod bolesnika sa Mednik sindromom mogu se dramatično poboljšati kao rezultat terapije cinkom.

3.4. Huppke-Brendl sindrom

Niski nivoi bakra i ceruloplazmina u serumu takođe su karakteristični kod odojčadi i djece sa homozigotnim ili složenim heterozigotnim mutacijama u *SLC33A1*, koji kodira acetyl CoA transporter, AT-1. Nedostatak AT-1 uzrokuje smanjeno lučenje ceruloplazmina *in vitro*, što upućuje na to da je potrebna posttranslacijska acetilacija ovog glikoproteina. Biohemijski fenotip je samo jedan aspekt ovog stanja koje danas nazivamo Huppke-Brendl sindrom, smrtonosni autozomno-recesivni poremećaj koji obuhvata urođene katarakte, gubitak sluha i ozbiljna kašnjenja u razvoju. Cerebralna magnetna rezonanca pokazuje izraženu cerebralnu hipoplaziju i hipomijelinizaciju kod oboljelih, slično kao kod Menkesove bolesti.

4. Nove terapijske metode

Pristupi genetskoj terapiji predstavljaju nove i potencijalno efikasne strategije tretmana Wilsonove bolesti. Adeno-vezana virusna genska terapija usmjerena na jetru mogla bi se dodatno procijeniti na trenutno dostupnim oglednim životinjama, ali ostaju nedoumice kada se radi o vjerovatnim troškovima i prihvatljivom korist-rizik profilu. Genske ili ćelijske terapije nude mogućnost pojednostavljenja tretmana Wilsonove bolesti, smanjujući oslanjanje na svakodnevnu upotrebu terapijskih lijekova. Konačno, procjena novih, kao i postojećih strategija liječenja potencijalnim nasumičnim kliničkim ispitivanjima, biće olakšana identifikacijom biomarkera Wilsonove bolesti.

Nedavno su uspješno tretirani ogledni miševi sa teškom Menkesovom bolešću, koristeći kombinaciju terapija usmjerenih na mozak: rekombinantni adeno-vezani virusni vektor serotipa 5 (AAV5) koji eksprimira redukovani ljudski ATP7A, plus bakar hlorid. Nijedan od tretmana sam za sebe nije bio efikasan, ali je kombinovana terapija značajno povećala preživljavanje. Identifikacija mehanizama koji daju ovo naglašeno sinergičko djelovanje pomoći će rasvjetljavanju normalnih procesa transporta bakra u mozgu, i funkciju ATP7A u različitim vrstama nervnih ćelija. Osim toga, ovaj iskorak u prenosu gena može imati buduće kliničke implikacije kod oboljelih od Menkesove bolesti sa teškim ATP7A mutacijama, kao i kod pacijenata sa oboljenjima motornih neurona povezanim sa ATP7A.

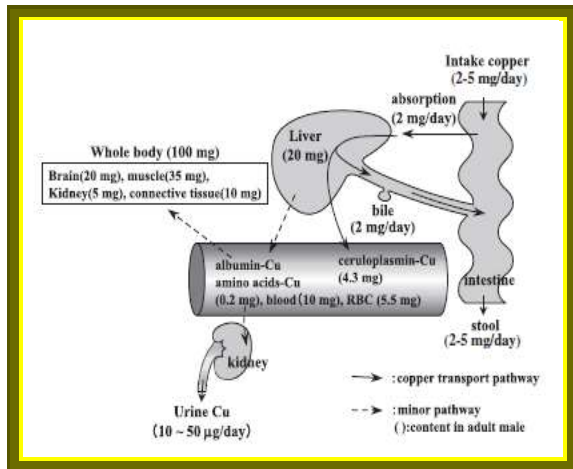
5. ZAKLJUČAK

Rezultati do kojih sam došla analizom dostupne mi literature, pokazuju da su poremećaji metabolizma bakra zastupljeni u cijelom svijetu, sa različitom prevalencom u zavisnosti od geografskog područja.

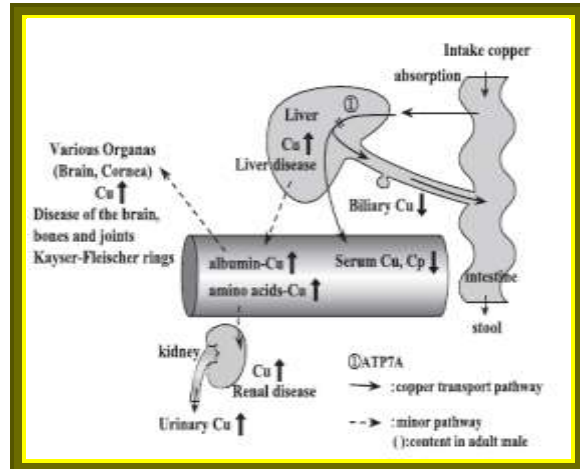
Poremećaj metabolizma bakra uzrokuje cijelu paletu bolesti koje po svojoj težini idu od blagih do po život opasnih.

Današnji uvid u dijagnozu i terapiju bolesti izazvanih ovim poremećajem, daje mogućnost za nove terapijske momente koji bi mogli biti sve veći i djelotvorniji.

6. PRILOZI



Prilog 1. Metabolizam bakra kod ljudi



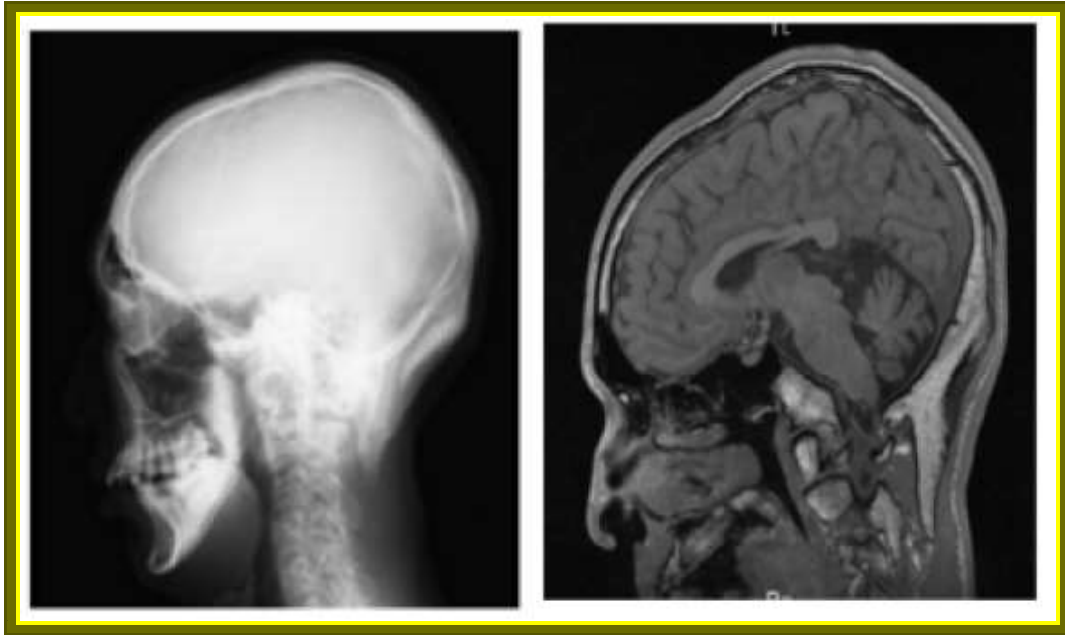
Prilog 2. Poremećaj homeostaze bakra kod pacijenata sa Wilsonovom bolešću



Prilog 3. Kayser-Fleischerov prsten sa taloženjem bakra u Descemetovoj membrani



Prilog 4. Izgled kose i lica kod klasične Menkesove bolesti u osmom mjesecu života



Prilog 5. Okcipitalni rogovi na rendgenskom snimku lobanje i MR



Prilog 6. Pes cavus deformacija stopala kod 43-godišnjeg pacijenta

LITERATURA

1. Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *Trace Elem Med Biol.* 2016;35:115–107.
2. Kodama H, Fujisawa C, Gu YH, Shiga K. Copper Metabolism and Copper Transport Disorders. *Biomed Res Trace Elem.* 2007;18:254-249.
3. Huster D. Wilson disease. *Best Pract Res Clin Gastr.* 2010;24:539-531.
4. Nicastro E, Ranucci G, Vajro P, Vegnente A, Iorio R. Re-evaluation of the diagnostic criteria for Wilson disease in children with mild liver disease. *Hepatology.* 2010; 52:1956-1948.
5. Marinkić M, Barbarić I. Posebnosti Wilsonove bolesti u djece. *Med Fluminensis.* 2014; 50:53-47.
6. Bandmann O, Weiss KH, Kaler SG. Wilson's disease and other neurological copper disorders. *Lancet Neurol.* 2015;14:113-103.
7. Tümer Z, Møller LB. Menkes disease. *Hum Genet.* 2010;18: 518–511.
8. Saha A, Mukherjee S, Seth J, Basu S. Menke's kinky hair disease with visual pathway defect: An association or coincidence?. *Paed Dermatol.* 2015;16:83-81.
9. Kaler SG. Inborn errors of copper metabolism. *Handb Clin Neurol.* 2013;113:1754-1745.
10. Yasmeeen S, Lund K, De Paepe A, De Bie S, Heiberg A, Silva J, et al. Occipital horn syndrome and classical Menkes Syndrome caused by deep intronic mutations, leading to the activation of ATP7A pseudo-exon. *Hum Genet.* 2014;22:521–517.
11. Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W. Inherited Copper Transport Disorders: Biochemical Mechanisms, Diagnosis, and Treatment. *Curr Drug Metabol.* 2012;13:250-237.
12. Moizard MP, Ronce N, Blesson S, Bieth E, Burglen L, Mignot C, et al. Twenty-five novel mutations including duplications in the ATP7A gene. *Clin Genet.* 2011;79:253–243.