

## NGS-ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДИАГНОСТИКИ И ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА–КОНОВАЛОВА

М. С. Балашова<sup>1,2</sup>, Н. А. Жученко<sup>1</sup>, И. Г. Тулузановская<sup>1</sup> ✉, О. С. Глотов<sup>3,4,5</sup>, О. С. Сенина<sup>1</sup>, Т. М. Игнатова<sup>6</sup>, А. Ю. Асанов<sup>1</sup><sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия<sup>2</sup> Российский научный центр хирургии имени Б. В. Петровского, Москва, Россия<sup>3</sup> Московский научно-практический центр лабораторных исследований, Москва, Россия<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия<sup>5</sup> Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Россия<sup>6</sup> Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, Москва, Россия

На протяжении нескольких десятилетий болезнь Вильсона–Коновалова (БВК) остается в фокусе внимания широкого круга специалистов: гепатологов, терапевтов, неврологов, генетиков и др. Однако несмотря на значительный прогресс в понимании ее молекулярных основ, одной из ключевых нерешенных проблем остается установление четких корреляций между генотипом и клиническим фенотипом заболевания. Целью работы было выявить закономерности между генетическими вариантами в гене *ATP7B* и клиническими проявлениями БВК на основе метода секвенирования нового поколения. В работе использовали данные 81 пациента с БВК, которых наблюдали в период с 2015 по 2019 гг. Молекулярно-генетическое исследование образцов биоматериала (кровь) проводили методом NGS. При анализе результатов молекулярно-генетического исследования методом таргетного NGS выявлен 31 патогенный вариант. Наибольшую частоту имели варианты: c.3207C>A (p.His1069Gln) — 51,85% аллелей, c.3190G>A (p.Glu1064Lys) — 8,64% аллелей и c.3402delC (p.Ala1135fs) — 6,17% аллелей. Установлена умеренная корреляция генотипа и фенотипа: патогенные варианты (нонсенс, фреймшифт, сплайсинг) в гомо- или компаунд-гетерозиготном состоянии ассоциированы с тяжелым поражением печени, выраженной степенью цирроза и более низким уровнем холинэстеразы. Полученные данные подчеркивают важность молекулярно-генетической диагностики для уточнения диагноза БВК и прогнозирования тяжести течения заболевания.

**Ключевые слова:** болезнь Вильсона–Коновалова, ген *ATP7B*, корреляция генотип-фенотип, секвенирование нового поколения

**Вклад авторов:** М. С. Балашова — курация пациентов, анализ данных NGS, написание статьи; Н. А. Жученко — обзор и анализ литературы, написание статьи; И. Г. Тулузановская — курация пациентов, анализ литературы, обработка и написание статьи; О. С. Глотов — подготовка данных молекулярно-генетического исследования, редактирование статьи; О. С. Сенина — работа с данными, редактирование статьи; Т. М. Игнатова — анализ литературы, редактирование статьи; А. Ю. Асанов — анализ литературы, написание и редактирование статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Сеченовского университета (протокол № 07-23, от 27 апреля 2023 г.). Все участники исследования либо их законные представители подписали добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Инна Геннадьевна Тулузановская  
ул. Еланского, д. 2, строение 2, г. Москва, 119435, Россия; inna\_t77@mail.ru

**Статья получена:** 24.02.2026 **Статья принята к печати:** 11.03.2026 **Опубликована онлайн:** 01.04.2026

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2026.012

**Авторские права:** © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## NGS TECHNOLOGY AS A TOOL FOR THE WILSON'S DISEASE DIAGNOSIS AND SEVERITY ASSESSMENT

Balashova MS<sup>1,2</sup>, Zhuchenko NA<sup>1</sup>, Tuluzanovskaya IG<sup>1</sup> ✉, Glotov OS<sup>3,4,5</sup>, Senina OS<sup>1</sup>, Ignatova TM<sup>6</sup>, Asanov AYU<sup>1</sup><sup>1</sup> Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia<sup>2</sup> Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia<sup>3</sup> Moscow Scientific and Practical Center for Laboratory Research, Moscow, Russia<sup>4</sup> Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, St. Petersburg, Russia<sup>5</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia<sup>6</sup> State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A. I. Burnazyan, Moscow, Russia

For several decades, Wilson's disease (WD) has remained the focus of attention for a wide range of specialists, including hepatologists, general practitioners, neurologists, geneticists, etc. However, despite significant advances in understanding its molecular basis, establishing clear correlations between the genotype and clinical phenotype of the disease remains a key unresolved issue. The study aimed to identify patterns between genetic variants in the *ATP7B* gene and the WD clinical manifestations using next-generation sequencing. The data from 81 WD patients, who were followed up between 2015 and 2019, were used in the study. Molecular genetic testing of biomaterial (blood) samples was performed by NGS. The analysis of the molecular genetic testing results using targeted NGS revealed 31 pathogenic variants. The following variants were the most frequent: c.3207C>A (p.His1069Gln) — 51.85% alleles, c.3190G>A (p.Glu1064Lys) — 8.64% alleles, and c.3402delC (p.Ala1135fs) — 6.17% alleles. A moderate correlation between genotype and phenotype was established: pathogenic variants (nonsense, frameshift, splicing) in the homo- or compound heterozygous state are associated with severe liver damage, severe degree of cirrhosis, and lower cholinesterase levels. The data obtained emphasize the importance of molecular genetic diagnosis for clarifying the diagnosis of WD and predicting the disease severity.

**Keywords:** Wilson's disease, *ATP7B* gene, genotype-phenotype correlation, next-generation sequencing

**Author contribution:** Balashova MS — follow-up of patients, NGS data analysis, manuscript writing; Zhuchenko NA — literature review and analysis, manuscript writing; Tuluzanovskaya IG — follow-up of patients, literature analysis and processing, manuscript writing; Glotov OS — molecular genetic testing data preparation, manuscript editing; Senina OS — data entry, manuscript writing; Ignatova TM — literature analysis, manuscript editing; Asanov AYU — literature analysis, manuscript writing and editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Sechenov University (protocol No. 07-23 dated 27 April 2023). All subjects or their legal representatives submitted the informed consent for participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Inna G. Tuluzanovskaya  
Yelansky, 2, bld. 2, 119435, Moscow, Russia; inna\_t77@mail.ru

**Received:** 24.02.2026 **Accepted:** 11.03.2026 **Published online:** 01.04.2026

**DOI:** 10.24075/brsmu.2026.012

**Copyright:** © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Болезнь Вильсона–Коновалова (БВК, OMIM #277900) — аутосомно-рецессивное нарушение метаболизма меди, обусловленное патогенными и вероятно-патогенными вариантами в гене *ATP7B*, кодирующем медь-транспортную АТФазу гепатоцитов [1]. Заболевание характеризуется чрезмерным накоплением меди в печени, головном мозге, роговице и других органах, что приводит к широкому спектру клинических проявлений: от острой печеночной недостаточности и цирроза до неврологических и психиатрических симптомов. Несмотря на моногенный характер, фенотипическая гетерогенность БВК исключительно велика: возраст манифестации варьирует от 2 до 72 лет, а клиническая картина может включать как изолированное поражение печени, так и неврологические симптомы без печеночной недостаточности, их сочетание, а также разнообразные внепеченочные проявления [1].

Одной из ключевых причин такой вариативности является генотип-фенотипическая корреляция. На сегодняшний день описано более 1000 вариантов в *ATP7B*, ассоциируемых с БВК; ряд исследований демонстрирует связь определенных вариантов с более ранним началом и тяжелым течением заболевания или с поздней манифестацией и преимущественно печеночной формой [2, 3].

В различных популяциях генотип-фенотипические различия проявляются с учетом наиболее частого/мажорного варианта. Так, в Европе наиболее частым вариантом является р.His1069Gln (H1069Q), который в гомозиготном состоянии связан с поздним началом заболевания (средний возраст около 20 лет) и преобладанием неврологических симптомов [3, 4]. В восточноазиатских популяциях доминирует патогенный вариант р.Arg778Leu (R778L), который ассоциирован с более ранним началом (часто в детском возрасте) и преимущественно печеночной формой [2, 5].

В некоторых регионах встречаются уникальные/специфические частые нуклеотидные последовательности (например, с.-436\_-422del в Индии и р.Val1146Met на Сардинии), также демонстрирующие характерные клинические особенности [6].

Метаанализы подтверждают, что нонсенс- и frameshift-варианты, приводящие к полному отсутствию функционального белка, коррелируют с более тяжелым и ранним течением, тогда как миссенс-варианты, сохраняющие остаточную активность *ATP7B*, чаще ассоциированы с более мягким фенотипом и поздним дебютом [2, 7].

Таким образом, понимание генотип-фенотипических корреляций при болезни Вильсона–Коновалова имеет не только теоретическое, но и практическое значение: позволяет прогнозировать течение заболевания, определять приоритет скрининга в конкретных этнических группах и, возможно, в будущем разрабатывать персонализированные подходы к терапии.

Цель работы — выявить закономерности между генетическими вариантами в гене *ATP7B* и клиническими проявлениями болезни Вильсона–Коновалова на основе секвенирования нового поколения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на основе анализа данных 81 пациента с диагнозом «болезнь Вильсона–Коновалова», верифицированным методом NGS (next generation sequencing). Информация получена из клиничко-генетической базы данных, содержащей сведения о 296 пациентах с БВК. Наблюдение за пациентами осуществлялось в

Клиническом центре (Клиника ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е. М. Тареева) ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) с 2015 по 2019 гг.

Диагноз БВК устанавливали в соответствии с российскими и европейскими клиническими рекомендациями, применением Лейпцигской балльной шкалы (Лейпциг, 2001). Основные критерии постановки диагноза: результаты молекулярно-генетического исследования гена *ATP7B*; характерные клинические проявления (печеночные и неврологические симптомы, кольцо Кайзера–Флейшера); показатели обмена меди.

Лабораторная диагностика включала: клинический анализ крови и мочи; биохимический анализ крови (с оценкой уровня активности трансаминаз печени, липидного профиля, показателей обмена железа); исследование показателей обмена меди (церулоплазмин в плазме крови, медь в суточной моче). Инструментальные методы включали: УЗИ брюшной полости; офтальмологическое обследование с использованием щелевой лампы.

Молекулярно-генетическое исследование образцов биоматериала (кровь) методом NGS проводили на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта». Применяли таргетную NGS-панель, включающую ген *ATP7B* и ряд потенциальных генетических модификаторов: *HFE*, *COMMD1*, *XIAP*, *CFTR*, *APOE*, *PRNP*.

Панель реализована на платформе NimbleGen SeqCap EZ Choice (151012\_HG38\_CysFib\_EZ\_HX3, ROCHE, Швейцария). Секвенирование выполняли с использованием системы MiSeq Sequencing System (Illumina, США), обеспечивающей высокопроизводительное полногеномное секвенирование.

Подтверждение выявленных вариантов проводили с применением секвенирования по Сэнгеру.

## Биоинформатический анализ

Биоинформатический анализ результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью следующих программ: «GeneTalk» (<https://www.gene-talk.de/>), «UGENE» (<http://ugene.unipro.ru/>), «IonReporter» (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ir/>), «PolyPhen-2» ([genetics.bwh.harvard.edu/pph2/](http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/)) и «PAPi» (<http://papi.unipv.it/>).

Полученные данные интерпретировали в соответствии с рекомендациями Руководства по интерпретации данных [8, 9].

Для прогнозирования эффекта вариантов использовали программы предсказания патогенности: SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen-2 ([genetics.bwh.harvard.edu/pph2/](http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/)), ClinVar, PROVEAN, fathmm-MKL, WilsonGen и другие.

## Статистический анализ

В ходе исследования использовали стандартные методики статистического анализа. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных статистических программ «IBM SPSS Statistics» (США), а также программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из сформированной клиничко-генетической базы данных пациентов с БВК [10] были выбраны материалы пациентов с NGS-исследованием гена *ATP7B*. Общее количество пациентов 81 (из них 23 мужчины и 58 женщин), средний

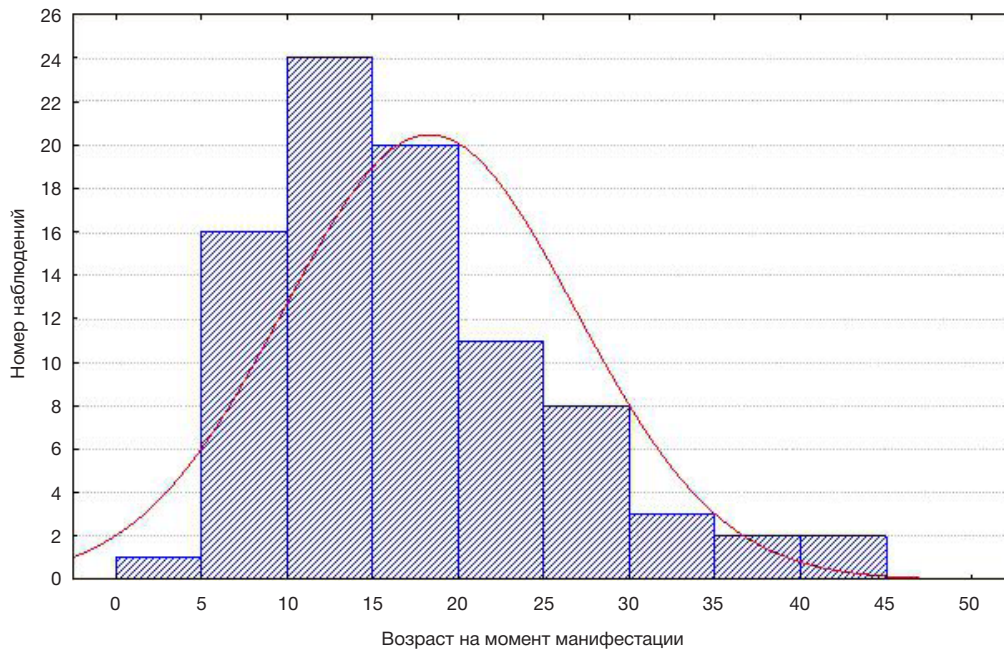


Рис. Возраст пациентов на момент манифестации заболевания

возраст пациентов на момент обследования составил  $29,21 \pm 6,5$  (от 8 до 68 лет).

#### Клиническая характеристика

У подавляющего большинства (60%) больных преобладали признаки поражения печени. У 65,72% этих больных были только печеночные проявления, а у 34,28% больных имели место минимальные неврологические проявления.

Сочетание печеночных и церебральных проявлений (неврологических и психиатрических) выявлено у 31%. Бессимптомное течение (выявлено при семейном скрининге; лечение начато до манифестации) — у 9%. Средний возраст пациентов, выявленных при семейном скрининге, — 15,85 (от 7 до 27 лет).

Варианты дебюта БВК были разделены по тяжести течения: тяжелое течение (декомпенсированный цирроз, фульминантный гепатит, печеночная недостаточность) — 25,8%; относительно нетяжелое течение (хронический гепатит, цирроз без недостаточности, внепеченочные проявления) — 38,5%; внепеченочная патология — 35,7% случаев.

Средний возраст манифестации БВК —  $18,21 \pm 8,55$  (от 5 до 45 лет) (рисунок).

При оценке биохимических маркеров также установлено, что средний уровень церулоплазмينا у пациентов достигал 0,113 г/л. Распределение значений по группам выглядело следующим образом: у 38,7% пациентов уровень был ниже 0,1 г/л, у половины обследованных (50%) от 0,1 до 0,2 г/л, а у 11,3% показатели оставались в пределах нормы (свыше 0,2 г/л).

Анализ суточной экскреции меди с мочой показал среднее значение 466,75 мкг/сут при значительном разбросе данных (среднеквадратичное отклонение — 635,82). Лишь у небольшого числа пациентов (4,6%) показатель не превышал нормативные 50 мкг/сут.

Анализ сроков постановки диагноза показал значительную задержку в большинстве случаев. Лишь у трети пациентов (33%) болезнь Вильсона–Коновалова была выявлена в первые три месяца после появления симптомов. У 29% больных диагностика заняла от трех месяцев до года, у

30% — от года до десяти лет, а у 8% пациентов диагноз был установлен лишь спустя более десяти лет после начала заболевания.

В ходе терапии 48,8% пациентов получали комбинированное лечение Д-ПАМ и сульфатом цинка. Монотерапию Д-ПАМ проходили 40,2%, а 8,5% принимали исключительно сульфат цинка. Средняя продолжительность медь-элиминирующей терапии до достижения клинической стабилизации составила  $10,25 \pm 4,7$  месяцев, при этом индивидуальный диапазон варьировался от 2 до 36 месяцев.

Динамику развития БВК оценивали не ранее чем через два года после диагностики и старта лечения (табл. 1). В клинике имени Е. М. Тареева пациенты наблюдались в среднем 5,8 лет; при этом самый длительный период наблюдения составил 46 лет.

#### Спектр и частота патогенных и вероятно-патогенных вариантов в гене *ATP7B*

В исследовании проведено секвенирование гена *ATP7B* у 81 пациента с подтвержденной БВК. Основная группа пациентов относится к русским. Всего выявлен 31 патогенный вариант, их перечень, характеристика и частота встречаемости представлены в табл. 2.

NGS позволил выявить нуклеотидные последовательности на обеих хромосомах у 96% и на 98% аллелей. У 4% пациентов (2% аллелей) кандидатных вариантов не было обнаружено, несмотря на развернутую клиническую картину БВК.

Среди выявленных нуклеотидных последовательностей доминировали три варианта: с.3207C>A (p.His1069Gln) — самый распространенный, выявлен на 51,85% аллелей; с.3190G>A (p.Glu1064Lys) — обнаружен на 8,64% аллелей; с.3402delC (p.Ala1135fs) — отмечен на 6,17% аллелей. Большинство пациентов (72,5%) оказались компаунд-гетерозиготными, в 16,15% случаев выявлены единичные редкие варианты гена *ATP7B*. Выявлены ранее не описанные варианты, потенциально связанные с развитием БВК: с.1870-8A>G; с.3655A>T (p.Ile1219Phe); с.3036dupC (p.Lys1013fs).

По своему эффекту варианты распределились следующим образом: 73,33% — миссенс, 14% аллелей — фреймшифт,

Таблица 1. Динамика течения заболевания

Показатели	Первичное обследование	Повторное обследование
Цирроз печени (декомпенсированный)	23,90%	0
Неврологическая симптоматика (включая нарушение сна, головные боли)	29,10%	20,90%
Поражение почек	15,10%	10,50%
Кольцо Кайзера–Флейшера	72,10%	19,80%
Гепатомегалия (УЗИ)	64%	42,80%
Жалобы (без жалоб)	30,60%	40,70%

4,67% — варианты сайтов сплайсинга, 4% — нонсенс, 4% — индел. Варианты обнаружены во всех экзонах гена *ATP7B*, кроме 1, 3, 5, 9, 10, 12 и 21.

### Оценка взаимосвязи между нуклеотидными вариантами и тяжестью течения БВК

В исследовании анализировали связь между эффектом нуклеотидных последовательностей в гене *ATP7B* и тяжестью течения БВК. В качестве критериев тяжести течения заболевания рассматривали следующие: возраст

манифестации (три категории: до 15 лет; 15–31 год; старше 31 года); степень поражения печени на момент дебюта болезни (декомпенсированный цирроз — 33%, компенсированный цирроз — 49,4%, отсутствие цирроза — 17,3%).

Нуклеотидные последовательности группировали в зависимости от их потенциального влияния на белковый продукт (табл. 3).

1. Тяжелые нарушения на обеих копиях гена — нонсенс-варианты, фреймшифт-варианты, варианты сайта сплайсинга.

Таблица 2. Выявленные варианты гена *ATP7B*

Домен	Экзон	Вариант	Эффект	Частота, %
Металл-связывающий	2	c.331C>T (p.Gln111*)	stop	1,85
	2	c.403_404delTC(p.Ser135fs)	frameshift	0,62
	2	c.414_415insAG (p.Pro139fs)	frameshift	1,24
	4	c.1630C>T (p.Gln544*)	stop	0,62
Трансмембранный	6	c.1870-8A>G	splicing	0,62
	7	c.1969A>C (p.Ser657Arg)	missens	0,62
		c.1971dupC (p.Met658fs)	frameshift	0,62
		c.2121+3A>G	splicing	0,62
	8	c.2128G>A (p.Gly710Ser)	missens	0,62
		c.2293G>A (p.Asp765Asn)	missens	0,62
		c.2304dupC (p.Met769fs)	frameshift	4,94
		c.2332C>G (p.Arg778Gly)	missens	2,47
c.2336G>A (p.Trp779*)		stop	0,62	
Фосфатазный	11	c.2605G>T (p.Gly869*)	stop	0,62
Трансмембранный	13	c.2998G>A (p.Gly1000Arg)	missens	0,62
		c.3036dupC (p.Lys1013fs)	frameshift	1,23
Фосфорилирующий	14	c.3190G>A (p.Glu1064Lys)	missens	8,64
		c.3207C>A (p.His1069Gln)	missens	51,85
Трансмембранный	15	c.3402delC (p.Ala1135fs)	frameshift	6,17
	16	c.3556+1G>T	splicing	0,62
АТФ-связывающий	17	c.3098C>T(p.Thr1033Ile)	missens	0,62
		c.3646G>A (p.Val1216Met)	missens	0,62
		c.3649_3654delGTTCTG	indel	4,32
		c.3655A>T (p.Ile1219Phe)	missens	0,62
		c.3659C>T (p.Thr1220Met)	missens	0,62
Фосфорилирующий	18	c.3809A>G (p.Asn1270Ser)	missens	0,62
Трансмембранный	19	c.3948delG (p.Thr1317fs)	frameshift	0,62
		c.3955C>T (p.Arg1319*)	stop	0,62
		c.3965G>C (p.Arg1322Pro)	missens	0,62
С-конец (стабилизирующая функция)	20	c.4022G>A (p.Gly1341Asp)	missens	0,62
		c.4125-2A>G	splicing	2,47

Примечание: адаптировано из [11].

Таблица 3. Распределение пациентов при группировке по потенциальному эффекту нуклеотидных последовательностей

Генотип	Доля отдельных генотипов	Группа тяжести по мутации	Доля групп по эффекту
frameshift/ frameshift	3%	1	8%
frameshift /nonsense	2%		
frameshift/splising	3%		
frameshift /indel	3%	2	34%
frameshift /missense	19%		
missense / nonsense	8%		
missense / splising	4%		
missense / missense	56%	3	58%
missense / indel	2%		

2. Смешанный эффект — на одной копии гена тяжелые нарушения (нонсенс, фреймшифт, сплайсинг), на второй — относительно мягкие (миссенс-варианты, инделы).

3. Мягкие нарушения на обеих копиях гена — миссенс-варианты, инделы.

Возраст манифестации: статистически достоверной связи между генотипом (по эффекту нуклеотидных последовательностей на синтез белка) и возрастом дебюта заболевания не выявлено; случаи поздней манифестации ( $\geq 31$  года) зафиксированы только у пациентов, гомозиготных либо компаунд-гетерозиготных по мажорному варианту.

Поражение печени: отсутствие цирроза чаще отмечалось у гомозиготных и компаунд-гетерозиготных носителей вариантов с.3207C>A (p.His1069Gln) (15% против 2,3%); у пациентов с нонсенс-, фреймшифт- или сплайсинг-вариантами на обеих копиях гена *ATP7B* при манифестации чаще наблюдался декомпенсированный цирроз печени, а возраст дебюта составлял менее 15 лет.

Таким образом, выявлена корреляция:

между типом манифестации БВК и генотипом (по эффекту нуклеотидной последовательности на синтез белка) выявлена умеренная связь: коэффициент корреляции  $r = -0,305$  ( $p = 0,009$ );

между степенью цирроза печени по Чайлд–Пью и потенциальным эффектом нуклеотидных вариантов — умеренная связь  $r = -0,374$  ( $p = 0,004$ );

между уровнем холинэстеразы (ХЭ) в крови и эффектом нуклеотидных последовательностей — умеренная связь  $r = 0,5368$  ( $p = 0,004$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе представлены данные пациентов с диагнозом «болезнь Вильсона–Коновалова», верифицированным методом NGS, и результатами анализа связи между тяжестью течения заболевания и типами вариантов в гене *ATP7B*.

Анализ показал, что полученные данные согласуются с актуальными представлениями о клинических проявлениях и генетическом разнообразии БВК. В частности, подтверждено, что варианты с полной утратой функции белка коррелируют с более тяжелой формой заболевания. Вместе с тем обнаружены некоторые специфические черты, отличающие исследуемую когорту.

Подтверждаются клинический полиморфизм заболевания и преобладание абдоминальной формы [12–14]. Возраст манифестации и сроки диагностики соответствуют мировым тенденциям [12, 15]. Однако отмечены и некоторые отличия. Так, доля бессимптомных случаев (30,6%) в нашей выборке выше, чем в большинстве опубликованных исследований (10–20%) [16].

На сегодняшний день метод NGS активно используют для изучения генетических особенностей БВК по всему миру. В нашем исследовании наиболее частым оказался вариант с.3207C>A (p.His1069Gln) (51,85% аллелей), что соответствует данным по России и Восточной Европе [17, 18]. Вторым по частоте стал вариант с.3190G>A (p.Glu1064Lys) (8,63% аллелей), третья по частоте — с.3402delC (p.Ala1135fs) (6,17% аллелей). На 16,15% аллелей выявлены редкие мутации. Три нуклеотидных варианта (с.1870–8A>G, с.3655A>T, с.3036dupC) впервые описаны как патогенные для БВК.

В работе ученых с Дальнего Востока была проанализирована когорта из 100 человек из Восточной Евразии. Мажорная нуклеотидная последовательность p.His1069Gln (с.3207C>A) была выявлена у 48% пациентов (в гомозиготной форме — у 30%); вариант p.Glu1064Lys (с.3190G>A) — у 20%; вариант p.Met769HisfsTer26 (с.2304insC) — 8%, другие варианты составили 23,9% [17].

По данным Human Gene Mutation Database в гене *ATP7B* распределение типов нуклеотидных последовательностей (60% — миссенс- и нонсенс-варианты; 26% — инделы, 9% — варианты сайтов сплайсинга) схоже и в нашем

Таблица 4. Информативность в зависимости от объема генетического исследования

Объем исследования	Информативность, %	
	По пациентам	По аллелям
Только с.3207C>A	72,90%	51,85%
12 частых вариантов: с.1340_1343del4, с.1770incT, с.2304insC, с.2532delCA, с.3026_3028delTCA, с.3029insT, с.3031insC, с.3207C>A, с.3402delC, с.3627_3630del4, с.3649_3654del6, с.3942delAT, 3947delL	88,30%	62,80%
NGS гена <i>ATP7B</i>	96%	98%

исследовании, но с более высокой долей миссенс-вариантов (73,33%) [19].

Дополнительно мы провели сравнение спектра выявленных в данном исследовании нуклеотидных последовательностей в гене *ATP7B* с наиболее распространенной в РФ диагностической панелью для болезни Вильсона–Коновалова (табл. 4). Из 12 вариантов, включенных в рутинную диагностическую панель, в обследованной выборке обнаружены четыре варианта: с.2304insC; с.3207C>A; с.3402delC; с.3649\_3654del6. Выявлены три варианта, которые регулярно регистрировались у обследованных нами пациентов, но не входящие в стандартную панель: с.2332C>G (p.Arg778Gly); с.4125–2A>G; с.3190G>A (p.Glu1064Lys).

Молекулярно-генетическое исследование методом секвенирования нового поколения (NGS) продемонстрировало высокую информативность в выявлении патогенных вариантов при БВК. Стандартная диагностическая панель, применяемая в РФ, охватывает лишь часть спектра вариантов, характерных для российской популяции пациентов с БВК. Метод NGS позволяет выявлять как распространенные, так и редкие варианты, не включенные в стандартные панели. Полученные данные обосновывают необходимость расширения существующих диагностических панелей с учетом региональных особенностей генетического профиля пациентов.

В ходе исследования оценена взаимосвязь между генетическими особенностями (тип варианта, его патогенетический эффект) и клиническими проявлениями БВК, а именно тяжестью течения. Также не выявлено статистически значимой корреляции между гомозиготным носительством мажорного варианта и тяжестью течения заболевания, и иными анализируемыми клиническими показателями, а также возрастом и полом, как и в исследовании Ferenci [14].

Установлена достоверная связь между нуклеотидными последовательностями, существенно нарушающими функцию белкового продукта (нонсенс, фреймшифт, варианты сайта сплайсинга), и следующими клиническими признаками: манифестация БВК с тяжелым поражением печени; более выраженный цирроз печени на момент диагностики; сниженный уровень холинэстеразы (ХЭ).

Полученные результаты согласуются с некоторыми исследованиями. Так, в одной из работ значимая корреляция была выявлена только для нонсенс-мутаций, а для миссенс-мутаций она была слабая или отсутствовала [4]. Была продемонстрирована корреляция между нонсенс- и фреймшифт-вариантами и более ранним дебютом заболевания, а также тяжелым течением БВК [20].

В ряде крупных исследований показана лишь слабая или отсутствующая генотип-фенотипическая корреляция. Согласно исследованию китайских ученых, генотип объясняет только 38% варибельности возраста дебюта [7].

По данным EuroWilson registry, генотип объясняет около 27% варибельности возраста дебюта и менее 20% варибельности формы заболевания (печеночная либо неврологическая) [21]. При миссенс-вариантах p.His1069Gln и p.Glu1064Lys моторные нарушения выявлялись в 53–58%, изменения на MPT мозга — 59–69%, кольца Кайзера-Флейшера — 29–31%, когнитивные нарушения — 24–27%. При LOF варианте p.Met769HisfsTer26 у 60% пациентов отмечались изменения печени на УЗИ. Гендерной зависимости не было выявлено [17].

Несмотря на обнаруженную в нашем исследовании умеренную корреляцию между характером нуклеотидных

последовательностей в гене *ATP7B* и тяжестью течения болезни Вильсона–Коновалова, установление четких генотип-фенотип взаимосвязей остается сложной задачей. Это обусловлено комплексом взаимосвязанных факторов, которые можно систематизировать по нескольким ключевым направлениям.

### Генетические факторы

*Варибельная экспрессивность и клинический полиморфизм.* Так, в пределах одной семьи при идентичном генотипе наблюдается широкий спектр клинических проявлений — от бессимптомного течения до тяжелых полиорганных поражений [14, 22]. Это указывает на влияние дополнительных генетических и средовых модификаторов.

*Высокая генетическая гетерогенность.* Более чем у 60% пациентов выявлена компаунд-гетерозиготность по двум различным патогенным вариантам. При этом функциональные последствия большинства редких нуклеотидных последовательностей остаются неизученными, что затрудняет прогнозирование фенотипа [23].

*Отсутствие единообразия фенотипа у гомозигот по мажорному варианту.* Пациенты с идентичным генотипом (например, гомозиготы по p.H1069Q) демонстрируют существенные различия в возрасте дебюта, тяжести поражения печени и неврологической симптоматике [4, 7].

*Влияние генетических модификаторов.* Помимо основного гена *ATP7B*, на фенотип влияют варианты в других генах: *MTHFR* (метаболизм гомоцистеина); *COMD1*, *ATOX1*, *XIAP* (гомеостаз меди); *APOE* (липидный обмен); *PRNP*, *HFE* (общие метаболические пути) и др. Эти полиморфные варианты оказывают заметное влияние на возраст дебюта (до 5–12 лет) [24, 25].

### Клинико-демографические факторы

*Половые различия.* У женщин дебют БВК в среднем наступает на 3–6 лет позже, чем у мужчин, что связывают с протективным действием эстрогенов на метаболизм меди. Гормональный фон, пубертатный период и менопауза могут провоцировать обострение симптомов или изменять их выраженность [26].

### Средовые и эпигенетические факторы

*Диетические особенности, повышенное потребление меди* (например, с питьевой водой или продуктами) способны ускорять манифестацию заболевания.

*Коморбидные состояния.* Инфицирование вирусным гепатитом, злоупотребление алкоголем или прием гепатотоксичных препаратов усугубляют поражение печени.

*Эпигенетическая регуляция.* Метилирование ДНК, модификации гистонов и действие некодирующих РНК могут модулировать экспрессию *ATP7B* и генов-модификаторов, влияя на фенотип [27].

### Методологические ограничения исследований

*Неоднородность критериев фенотипирования.* Разные исследования используют различные шкалы для оценки тяжести поражения печени, неврологических симптомов и биохимических маркеров. Недостаточный охват семейного скрининга. Отсутствие данных о родственниках затрудняет анализ сегрегации генотипа и фенотипа в семьях.

*Поздняя диагностика.* Многие пациенты обращаются за помощью уже на стадии декомпенсации цирроза или

неврологических осложнений, что искажает представления о естественной истории болезни.

**Селективная потеря данных.** Пациенты с тяжелыми генотипами чаще подвергаются трансплантации печени или погибают до включения в исследование, создавая «смещение выживаемости».

**Ограниченная выборка.** Малые размеры когорт снижают статистическую мощность для выявления корреляций, особенно для редких мутаций [13, 28].

Многофакторность патогенеза БВК объясняет трудности в установлении однозначных генотип-фенотип связей. Для преодоления этих ограничений необходимы: крупные многоцентровые исследования с унифицированными критериями фенотипирования; комплексный анализ не только АТР7В, но и генетических-модификаторов; учет средовых и эпигенетических факторов в моделях прогнозирования; проспективные наблюдения за семьями с установленным генотипом.

Только такой интегративный подход позволит повысить точность прогнозирования течения БВК и персонализировать терапевтические стратегии.

Несмотря на отсутствие прямой корреляции между генотипом и возрастом манифестации БВК, проведенный анализ выявил зависимость тяжести поражения печени и от характера нуклеотидных вариантов. Применение методов

NGS в клинической практике существенно упрощает и ускоряет диагностику БВК, что позволяет оперативно инициировать медь-элиминирующую терапию.

## Выводы

В ходе исследования с применением секвенирования нового поколения (NGS) у российской когорты пациентов с болезнью Вильсона–Коновалова (БВК) выявлен 31 патогенный вариант в гене АТР7В, среди которых наиболее распространенными стали с.3207С>А (р.His1069Gln), с.3190G>А (р.Glu1064Lys) и с.3402delC (р.Ala1135fs). Установлена связь между нуклеотидными последовательностями, вызывающими тяжелые нарушения белка АТР7В (нонсенс-варианты, фреймшифт-варианты и варианты сайтов сплайсинга), и неблагоприятными клиническими проявлениями БВК (тяжелое поражение печени, выраженный цирроз, сниженный уровень холинэстеразы), тогда как гомозиготность по варианту с.3207С>А (р.His1069Gln) не коррелировала с тяжестью течения. Полученные данные подтверждают высокую диагностическую эффективность NGS при БВК и подчеркивают перспективность дальнейших исследований генотип-фенотипических взаимодействий для персонализации терапии и улучшения клинического ведения пациентов.

## Литература

1. Ferenci P, Caca K, Loudianos G, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease: A European reference network for rare liver diseases (ERN RARE-LIVER) expert consensus statement. *J Hepatol.* 2023; 79 (2): 508–21. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.04.011.
2. Chang IJ, Hahn SH. The genetics of Wilson disease. *Handb Clin Neurol.* 2017; 142: 19–34. DOI: 10.1016/B978-0-444-63625-6.00003-3.
3. Przybyłowski A, Gromadzka G, Członkowska A. Genotype-phenotype correlation in Wilson's disease. *J Neurol.* 2014; 261 (8): 1467–473. DOI: 10.1007/s00415-014-7391-3.
4. Couchonnal E, Bouchard N, Poupon J, et al. Genotype-phenotype correlations in a large cohort of Wilson disease patients in France. *J Hepatol.* 2024; 80 (3): 416–25. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.11.020.
5. Xie JJ, Wu ZY. Wilson's disease in China. *Neurosci Bull.* 2017; 33 (3): 323–30. DOI: 10.1007/s12264-017-0100-8.
6. Lepori MB, Zappu A, Incollu S, et al. Mutation analysis of the АТР7В gene in a new group of Wilson's disease patients: contribution to diagnosis. *Mol Cell Probes.* 2012; 26 (4): 147–50. DOI: 10.1016/j.mcp.2012.03.007.
7. Lu Y, Zhang J, Li R, et al. Genotype-phenotype correlation in 1337 patients with Wilson disease. *Liver Int.* 2023; 43 (8): 1745–56. DOI: 10.1111/liv.15627.
8. Рьжкова О. П., Кардымон О. Л., Прохорчук Е. Б., Коновалов Ф. А., Масленников А. Б., Степанов В. А., и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская генетика. 2019; 18 (2): 3–23.
9. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17 (5): 405–24. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
10. Тулузановская И. Г., Балашова М. С., Жученко Н. А., Розина Т. П., Старостина Е. Е., Глотов О. С., и др. Клинико-генетическая база данных пациентов с болезнью Вильсона–Коновалова. Свидетельство о государственной регистрации базы данных РФ № 2024626180. 19.12.2024.
11. Balashova MS, Tuluzanovskaya IG, Glotov OS, Glotov AS, Barbitoff YA, Fedyakov MA, et al. The spectrum of pathogenic variants of the АТР7В gene in Wilson disease in the Russian Federation. *J Trace Elem Med Biol.* 2020; 59: 126420. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.126420. Epub 2019 Oct 25.
12. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, Baumann U, D'Antiga L, Tanner S, et al. Wilson's Disease in Children: A Position Paper by the Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018; 66 (2): 334–44. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001787.
13. EASL Clinical Practice Guidelines on Wilson disease. *J Hepatol.* 2022; 77 (2): 545–71. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.04.010.
14. Ferenci P, Stremmel W, Członkowska A, et al. Age and sex but not АТР7В genotype effectively influence the clinical phenotype of Wilson disease. *Hepatology.* 2019; 69 (4): 1464–81. DOI: 10.1002/hep.30280.
15. Подымова С. Д. Болезнь Вильсона–Коновалова. Особенности дебюта, течения заболевания, трудности диагностики, факторы прогрессирования. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022; 204 (8): 77–83. DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-204–8–77–83.
16. Ganaraja VH, Holla VV, Pal PK. Current Management of Neurological Wilson's Disease. *Tremor Other Hyperkinet Mov (NY).* 2025; 15: 17. DOI: 10.5334/tohm.938.
17. Garbuz M, Ovchinnikova E, Ovchinnikova A, Vinokurova V, Aristarkhova Y, Kuziakova O, et al. Spectrum of Pathogenic Variants of the АТР7В Gene and Genotype-Phenotype Correlation in Eastern Eurasian Patient Cohorts with Wilson's Disease. *Biomedicines.* 2024; 12 (12): 2833. DOI: 10.3390/biomedicines12122833.
18. Ovchinnikova EV, Garbuz MM, Ovchinnikova AA, Kumeiko VV. Epidemiology of Wilson's Disease and Pathogenic Variants of the АТР7В Gene Leading to Diversified Protein Disfunctions. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (4): 2402. DOI: 10.3390/ijms25042402.
19. Human Genom Mutation Database. Available from: <https://portal.biobaseinternational.com/hgmd/pro/start.php>.
20. Gromadzka G, Schmidt HH, Genschel J, Bochow B, Rodo M, Tarnacka B, et al. Frameshift and nonsense mutations in the gene for АТР7В are associated with severe impairment of copper metabolism and with an early clinical manifestation of Wilson's disease. *Clin Genet.* 2005; 68 (6): 524–32. DOI:

- 10.1111/j.1399-0004.2005.00528.x.
21. European Association for the Study of the Liver. EASL-ERN Clinical Practice Guidelines on Wilson's disease. *J Hepatol.* 2025; S0168-8278(24)02706-5. DOI: 10.1016/j.jhep.2024.11.007.
  22. Litwin T, Gromadzka G, Członkowska A. Monozygotic twins with Wilson's disease: a detailed phenotypic description. *Mov Disord.* 2012; 27 (14): 1820–1. DOI: 10.1002/mds.25205/.
  23. Sandahl TD, et al. The prevalence and spectrum of ATP7B mutations in a large cohort. *Hepatology.* 2022; 76 (3): 745–57. DOI: 10.1002/hep.32445
  24. Stättemayer AF, et al. Genetic modifiers of clinical presentation in Wilson disease. *Hepatology.* 2022; 75 (4): 912–23. DOI: 10.1002/hep.32214.
  25. Weiss KH, et al. MTHFR and COMMD1 polymorphisms influence age at diagnosis in Wilson disease. *J Hepatol.* 2023; 78: S213 (EASL abstract).
  26. Pfeiffenberger J, et al. Sex-specific differences in presentation and outcome of Wilson disease. *Liver Int.* 2023; 43 (10): 2210–9. DOI: 10.1111/liv.15678.
  27. Roberts EA, Schilsky ML. Environmental and dietary influences on copper toxicity and Wilson disease. *Hepatology.* 2022; 76 (6): 1625–37. DOI: 10.1002/hep.32645.
  28. Dong Y, et al. Methodological issues in genotype-phenotype studies of Wilson disease. *Hepatol Int.* 2024; 18 (2): 412–20. DOI: 10.1007/s12072-023-10612-4.
- References**
1. Ferenci P, Caca K, Loudianos G, et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease: A European reference network for rare liver diseases (ERN RARE-LIVER) expert consensus statement. *J Hepatol.* 2023; 79 (2): 508–21. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.04.011.
  2. Chang IJ, Hahn SH. The genetics of Wilson disease. *Handb Clin Neurol.* 2017; 142: 19–34. DOI: 10.1016/B978-0-444-63625-6.00003-3.
  3. Przybyłkowski A, Gromadzka G, Członkowska A. Genotype-phenotype correlation in Wilson's disease. *J Neurol.* 2014; 261 (8): 1467–473. DOI: 10.1007/s00415-014-7391-3.
  4. Couchonnal E, Bouchard N, Poupon J, et al. Genotype-phenotype correlations in a large cohort of Wilson disease patients in France. *J Hepatol.* 2024; 80 (3): 416–25. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.11.020.
  5. Xie JJ, Wu ZY. Wilson's disease in China. *Neurosci Bull.* 2017; 33 (3): 323–30. DOI: 10.1007/s12264-017-0100-8.
  6. Lepori MB, Zappu A, Incollu S, et al. Mutation analysis of the ATP7B gene in a new group of Wilson's disease patients: contribution to diagnosis. *Mol Cell Probes.* 2012; 26 (4): 147–50. DOI: 10.1016/j.mcp.2012.03.007.
  7. Lu Y, Zhang J, Li R, et al. Genotype-phenotype correlation in 1337 patients with Wilson disease. *Liver Int.* 2023; 43 (8): 1745–56. DOI: 10.1111/liv.15627.
  8. Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, Konovalov FA, Maslennikov AB, Stepanov VA, i dr. Rukovodstvo po interpretacii dannyh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennyh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redakciya 2018, versiya 2). *Medicinskaya genetika.* 2019; 18 (2): 3–23. Russian.
  9. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17 (5): 405–24. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
  10. Tulzanovskaya IG, Balashova MS, Zhuchenko NA, Rozina TP, Starostina EE, Glotov OS, i dr. Kliniko-geneticheskaya baza dannyh pacientov s boleznyu Vil'sona-Konovalova. Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii bazy dannyh RF № 2024626180. 19.12.2024. Russian.
  11. Balashova MS, Tulzanovskaya IG, Glotov OS, Glotov AS, Barbitoff YA, Fedyakov MA, et al. The spectrum of pathogenic variants of the ATP7B gene in Wilson disease in the Russian Federation. *J Trace Elem Med Biol.* 2020; 59: 126420. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.126420. Epub 2019 Oct 25.
  12. Socha P, Janczyk W, Dhawan A, Baumann U, D'Antiga L, Tanner S, et al. Wilson's Disease in Children: A Position Paper by the Hepatology Committee of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018; 66 (2): 334–44. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001787.
  13. EASL Clinical Practice Guidelines on Wilson disease. *J Hepatol.* 2022; 77 (2): 545–71. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.04.010.
  14. Ferenci P, Stremmel W, Członkowska A, et al. Age and sex but not ATP7B genotype effectively influence the clinical phenotype of Wilson disease. *Hepatology.* 2019; 69 (4): 1464–81. DOI: 10.1002/hep.30280.
  15. Podymova SD. Bolezn' Vil'sona-Konovalova. Osobennosti debyuta, techeniya zabolevaniya, trudnosti diagnostiki, faktory progressirovaniya. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya.* 2022; 204 (8): 77–83. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-204-8-77-83. Russian.
  16. Ganaraja VH, Holla VV, Pal PK. Current Management of Neurological Wilson's Disease. *Tremor Other Hyperkinet Mov (NY).* 2025; 15: 17. DOI: 10.5334/tohm.938.
  17. Garbuz M, Ovchinnikova E, Ovchinnikova A, Vinokurova V, Aristarkhova Y, Kuziakova O, et al. Spectrum of Pathogenic Variants of the ATP7B Gene and Genotype-Phenotype Correlation in Eastern Eurasian Patient Cohorts with Wilson's Disease. *Biomedicines.* 2024; 12 (12): 2833. DOI: 10.3390/biomedicines12122833.
  18. Ovchinnikova EV, Garbuz MM, Ovchinnikova AA, Kumeiko VV. Epidemiology of Wilson's Disease and Pathogenic Variants of the ATP7B Gene Leading to Diversified Protein Disfunctions. *Int J Mol Sci.* 2024; 25 (4): 2402. DOI: 10.3390/ijms25042402.
  19. Human Genom Mutation Database. Available from: <https://portal.biobaseinternational.com/hgmd/pro/start.php>.
  20. Gromadzka G, Schmidt HH, Genschel J, Bochow B, Rodo M, Tarnacka B, et al. Frameshift and nonsense mutations in the gene for ATPase7B are associated with severe impairment of copper metabolism and with an early clinical manifestation of Wilson's disease. *Clin Genet.* 2005; 68 (6): 524–32. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2005.00528.x.
  21. European Association for the Study of the Liver. EASL-ERN Clinical Practice Guidelines on Wilson's disease. *J Hepatol.* 2025; S0168-8278(24)02706-5. DOI: 10.1016/j.jhep.2024.11.007.
  22. Litwin T, Gromadzka G, Członkowska A. Monozygotic twins with Wilson's disease: a detailed phenotypic description. *Mov Disord.* 2012; 27 (14): 1820–1. DOI: 10.1002/mds.25205/.
  23. Sandahl TD, et al. The prevalence and spectrum of ATP7B mutations in a large cohort. *Hepatology.* 2022; 76 (3): 745–57. DOI: 10.1002/hep.32445
  24. Stättemayer AF, et al. Genetic modifiers of clinical presentation in Wilson disease. *Hepatology.* 2022; 75 (4): 912–23. DOI: 10.1002/hep.32214.
  25. Weiss KH, et al. MTHFR and COMMD1 polymorphisms influence age at diagnosis in Wilson disease. *J Hepatol.* 2023; 78: S213 (EASL abstract).
  26. Pfeiffenberger J, et al. Sex-specific differences in presentation and outcome of Wilson disease. *Liver Int.* 2023; 43 (10): 2210–9. DOI: 10.1111/liv.15678.
  27. Roberts EA, Schilsky ML. Environmental and dietary influences on copper toxicity and Wilson disease. *Hepatology.* 2022; 76 (6): 1625–37. DOI: 10.1002/hep.32645.
  28. Dong Y, et al. Methodological issues in genotype-phenotype studies of Wilson disease. *Hepatol Int.* 2024; 18 (2): 412–20. DOI: 10.1007/s12072-023-10612-4.