



ALTERACIÓN EN EL METABOLISMO DEL COBRE.

ENFERMEDAD DE MENKES



Autores

Rengel Díaz, Gloria

García, J.

Ramírez, J.

Zarra, R.

Infantes, R.

ALTERACIÓN EN EL METABOLISMO DEL COBRE. ENFERMEDAD DE MENKES

INTRODUCCIÓN.-

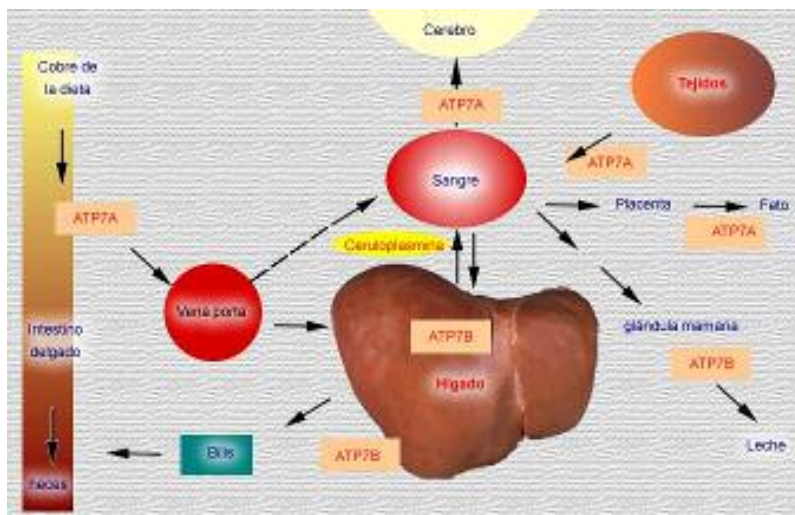
La enfermedad de Menkes entra de lleno en el apartado de Enfermedades Raras, es una enfermedad genética del metabolismo del cobre de comienzo prenatal (antes del nacimiento). Nos hemos decidido por esta patología ya que recientemente, hemos tenido en nuestro hospital dos niños con esta enfermedad, que nos ha obligado a profundizar en el conocimiento del síndrome. El cobre se acumula en cantidades excesivas en el hígado, pero existe un déficit de cobre en la mayoría de los restantes tejidos del organismo. Los cambios estructurales afectan al pelo, cerebro, huesos, hígado y arterias.

El cobre es un oligoelemento necesario para el organismo. Se combina con ciertas proteínas que actúan como catalizadores para ayudar a un gran número de funciones. Participa en la transformación de la melanina para la pigmentación de la piel, genera la formación de enlaces cruzados en el colágeno y la elastina para mantener y regenerar los tejidos, sirve para el funcionamiento correcto del corazón y las arterias, y nos llega a través de la alimentación. Los alimentos naturales como cereales, carne y pescado contienen el suficiente para proveer los requerimientos con una dieta equilibrada. Hay algunos más ricos en cobre como son: nueces, semillas de girasol, garbanzos, mariscos, yema de huevo, chocolate, pasas.

El cobre se transporta en sangre unido a la proteína ceruloplasmina. Las cifras normales en sangre, oscilan entre 70 -140 mcg/100 y es indetectable en orina. La ceruloplasmina en sangre oscila entre 20 – 60 mg/dl. Tanto el exceso de Cu, como su defecto originan metabolopatías. El aumento es característico de la enfermedad de Wilson. El déficit, el de la enfermedad de Menkes que vamos a desarrollar.

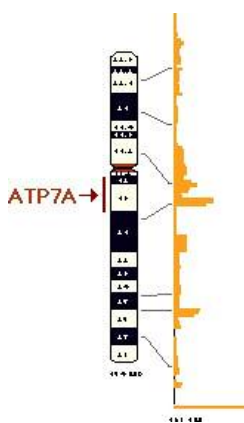
CONTENIDO EN COBRE DE ALGUNOS ALIMENTOS (por cada 100 g)

Hígado de ternera	9.0 mg
Carne bovina	3.2 - 2.4 mg
Hígado de vaca	3.2 mg
Anacardos	2.5 mg
Judías pintas	1.6 mg
Melaza, miel	1.4 mg
Ostras	1.2 mg
Langosta	1.4 mg
Semillas de girasol	1.2 mg
Chocolate	2.1 mg
Cacao en polvo	0.4 mg
Ciruelas pasas	0.3 mg
Salmón	0.7 mg
Pan integral	1.2 mg
Leche	0.05 mg



Esquema del metabolismo del Cu en el organismo.

DEFINICIÓN.-



El síndrome de Menkes, es una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X, caracterizada por un déficit generalizado del cobre. Sus características clínicas derivan de la disfunción de varias enzimas cobre-dependientes. La enfermedad es debida a mutaciones en un gen el ATP-7 (localizado en el cromosoma Xq13.3) que codifica una proteína intracelular transportadora de cobre. Los síntomas incluyen retraso del crecimiento intrauterino y deterioro neurológico progresivo, con aparición de hipotonía axial, espasticidad, convulsiones e hipotermia, que aparecen durante los primeros meses de vida. La gliosis provoca el desarrollo de microcefalia. El fenotipo del cabello es

llamativo: escaso, hipopigmentado, sin brillo, retorcido y frágil. El análisis microscópico revela pili torti (pelo enroscado). También aparece osteoporosis. Los vasos son largos y tortuosos, con luz irregular, desarrollan aneurismas, dando lugar a hemorragias subdurales, cerebrales e intestinales. El diagnóstico se realiza por las concentraciones de cobre, que son bajas en suero y altas en fibroblastos. Normalmente, los pacientes fallecen durante la primera infancia. Se han detectado varias mutaciones en el gen.. Los estudios de genética molecular en la familia pueden identificar portadores femeninos (quienes a veces presentan áreas afectadas con anomalías en el cabello) y fetos afectados (el diagnóstico prenatal también puede llevarse a cabo midiendo las concentraciones de cobre en vellosidades coriónicas o cultivo de amniocitos). El tratamiento consiste en inyecciones parenterales de cobre. Si se inicia rápidamente el tratamiento, se previenen los signos neurológicos y se prolonga la supervivencia. La incidencia de la enfermedad es de 1/300.000. El síndrome del cuerno occipital está causado por mutación en el mismo gen; así, el síndrome de Menkes y el síndrome del cuerno occipital son alélicos. Un reciente estudio de De Bie et al (2007) aporta una detallada revisión de la patogénesis molecular de la enfermedad de Menkes.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.-

Menkes et al. (1962) describen, en una familia de descendientes irlandeses que vivían en New York, una alteración recesiva ligada al cromosoma X caracterizada por un precoz retraso en el crecimiento, pelo peculiar y degeneración cerebral focal y cerebelar. La severa degeneración neurológica comienza en el primer o segundo mes de vida y progresa rápidamente a la descerebración. Cinco varones estaban afectados y la causa génica pudo ser deducida en cuatro de ellos. El fallo del crecimiento requirió de los niños afectados atención médica a las pocas semanas de vida y la muerte ocurrió entre el primer y segundo año. El pelo era vasto y blanco, microscópicamente aparecía retorcido, con diámetro variable a lo largo de la vaina, y con frecuentes fracturas a intervalos regulares. Diversas investigaciones bioquímicas mostraron elevadas cifras de ácido glutámico como única alteración consistente. Los cambios anatómicos en el SNC eran descritos sobre los hallazgos en dos autopsias.

Bray (1965) observó dos hermanos que murieron en la infancia con demencia espástica, convulsiones y pelo defectuoso. Los aminoácidos en sangre y orina eran normales. Si este es el mismo cuadro que el presentado en la familia de Menkes, no queda claro. Igual ocurre con la descripción de Yoshida et al. (1964). French and Sherard (1967) presentaron datos compatibles con el Menkes; su paciente de 16 meses presentaba: (1) pelo escaso, blanquecino, mustio, sin lustre y ensortijado que al microscopio aparecía pili torti,



Imagen de Pili torti

(2) retraso del crecimiento; (3) micrognatia y paladar arqueado; (4) retraso mental; (5) convulsiones generalizadas; y (6) cuadriparesia espástica con contracciones de extremidades, opistótonos y convulsiones. Estudios bioquímicos mostraron tocoferol sérico disminuido y aminoácidos normales en suero y orina. Una anormal autofluorescencia aparece en el pelo y en los axones de las células de Purkinje. La designación de enfermedad con el pelo ensortijado, 'Kinky hair disease', fue útil para detectar nuevos casos por lo fácil de apreciar esta característica. (O'Brien, 1968). Cambios en las metafisis de los huesos largos y tortuosidad de las arterias cerebrales han sido descritas.

Hipotermia y enfermedad aguda con septicemia han sido modos de presentación. Diversas anomalías de arterias sistémicas con estenosis u obstrucciones han sido observadas por Danks et al. (1971). Ellos también observaron metacromasia con azul-toluidina en fibroblastos. Wesenberg et al. (1969) señalan que el pelo fetal no muestra pili torti. Goka et al. (1976) encuentran que los fibroblastos cultivados tienen una concentración de cobre cinco veces mayor que los fibroblastos normales. Williams et al. (1978) describe la patología celular de la enfermedad de Menkes. Osaka et al. (1977) aporta dos familias japonesas. Ellos destacan que el pelo puede no ser anormal, que la determinación del cobre sérico es un test diagnóstico simple y valioso, y que “hipocupremia congénita” puede ser la denominación preferida. Proud et al. (1996) describen las características clínicas de 4 personas afectadas en 3 generaciones de una familia que manifestó una variante rara del síndrome de Menkes. Estos pacientes tenían una circunferencia craneal normal, moderado a severo retraso mental, comienzo a la edad de 3 o 4 años, disartria, laxitud de piel, divertículos vesicales, vasos tortuosos, diarrea crónica y exostosis occipital (evidente en 3 personas de 18 a 38 años). Proud et al. (1996) sugiere que estos pacientes, así como los pacientes con el síndrome del cuerno occipital descrito por Wakai et al. (1993), representa una nueva variante del síndrome de Menkes. Superposición fenotípica entre el síndrome de Menkes y el síndrome del cuerno occipital es de esperar que ocurra ya que ambos están causados por mutaciones en el gen ATP7A. Gerard-Blanluet et al. (2004) describen cuernos occipitales en un caso clásico de enfermedad de Menkes causado por una delección de 8-pb en el gen ATP7A. Ellos destacan que “cuerno occipital” hace referencia a una calcificación en forma de cuña que se forma dentro de la inserción tendinosa de los músculos trapecio y esternocleidomastoideo en el hueso occipital. Sugieren que la presencia de tracción voluntaria de estos tendones hiperlaxos unidos al cráneo podrían haber provocado calcificación de los tendones occipitales como una forma aberrante de reparación. Gerard-Blanluet et al. (2004) sugieren que la tracción voluntaria de estos músculos importantes después de los 2 años de edad, es necesaria para el desarrollo de los cuernos occipitales en pacientes con la enfermedad de Menkes causada por mutaciones en el gen ATP7A. Jankov et al. (1998) describen un recién nacido varón que inició el cuadro con una hemorragia aguda severa intraabdominal, shock hemorrágico y múltiples fracturas que conducen a la muerte el día 27. La enfermedad de Menkes era diagnosticada en la autopsia y confirmada por estudios de acumulación de cobre en fibroblastos cultivados. Tal comienzo temprano con complicaciones fatales en la enfermedad de Menkes no había sido descrito previamente. La mutación en este caso parecía idéntica a la encontrada en un varón no relacionado, con la enfermedad de Menkes que murió a los 4 años de edad sin enfermedad severa del tejido conectivo. Horn (1999) describe que la mutación en el gen ATP7A era arg980ter. Tumer and Horn (1997) revisan los aspectos clínicos y genéticos del síndrome de Menkes, incluyendo expresión fenotípica en mujeres, espectro de mutaciones, diagnóstico y tratamiento. Ellos también discuten el ratón moteado como un modelo para el síndrome de Menkes y nuevos conocimientos en el metabolismo del cobre eran aportados por estudios en el síndrome de Menkes y en la enfermedad de Wilson.

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS.-

Danks et al. (1972) presentaron evidencia de un defecto en la absorción intestinal del cobre. El déficit de cobre en animales lleva a cambios en el tejido conectivo a causa de la formación de complejos de lisina en la elastina y el colágeno resulta alterado por la dependencia de la lisina. Esto puede explicar las anomalías arteriales. Los llamativos cambios en el pelo son probablemente el resultado de la formación defectuosa de las uniones de disulfuro en la queratina ya que el proceso es cobre-dependiente, y el déficit de cobre en la oveja lleva a la formación de lana defectuosa (Collie et al., 1980). Menkes mandó pelo de sus pacientes originales a la comisión australiana de la lana, pero en aquel tiempo la Comisión no pudo identificar el problema (Menkes, 1972). Peltonen et al. (1983) encuentran muchas anomalías similares del metabolismo del cobre y el colágeno en fibroblastos cultivados de 13 pacientes con la enfermedad de Menkes y 2 pacientes con E-D IX. Tras diversos estudios concluyen que las semejanzas en resultados bioquímicos entre el tipo IX del síndrome Ehlers-Danlos y síndrome de Menkes pueden indicar alelismo. Scheinberg y Collins (1989) sugirieron que el defecto primario resida en el cinc, es decir, que la enfermedad de Menkes es sobre todo un desorden de una proteína cinc-dependiente, cuya síntesis está controlada por un gen en el cromosoma X. Cuando el cinc iónico está presente en el hígado o el intestino induce la síntesis del metalotioneína a la cual el cinc está unido. Puesto que la afinidad del metalotioneína para el cobre es 100.000 veces mayor que para el cinc, el cobre en cualquier órgano desplaza el cinc y se une a la metalotioneína. Estudios posteriores han aclarado estos procesos.

OTRAS CARACTERÍSTICAS.-

Menkes (1988) hizo una revisión útil en la cual enumeró 6 cuproenzimas, 5 de los cuales pueden explicar las características del desorden: tirosinasa para la despigmentación del pelo y palidez de la piel; lisil oxidasa para la íntima arterial raída y partida (defecto en la elastina y del colágeno); monoaminoxidasa para el pelo rizado; citocromo c oxidasa para la hipotermia; y ascorbato-oxidasa para la desmineralización esquelética. La Dopamina-beta-hidroxilasa es también una cuproenzima; qué papel puede tener su déficit en el fenotipo de la enfermedad del pelo rizado no está claro.

FRECUENCIA.-

Danks et al. (1971) sugirieron que la frecuencia pueda ser 1 en 40.000 nacimientos vivos en Melbourne, e incluso mayor, porque algunos pacientes pueden morir sin diagnosticar. Tonnesen et al. (1991) estimaban que la frecuencia combinada de los pacientes nacidos vivos con la enfermedad de Menkes en Dinamarca, Francia, los Países Bajos, el Reino Unido, y República Federal de Alemania era 1 por 298.000 niños nacidos vivos en el período 1976 a 1987. Estimaron el índice de mutación para la enfermedad de Menkes de 1.96×10^{-6} , basado en el número de los casos aislados de Menkes nacidos durante ese período.

BASE GENÉTICA.-

Citogenética. Gerdes et al. (1990) describieron 3 pacientes con síndrome clínico y bioquímico típico de Menkes; una anomalía cromosómica fue

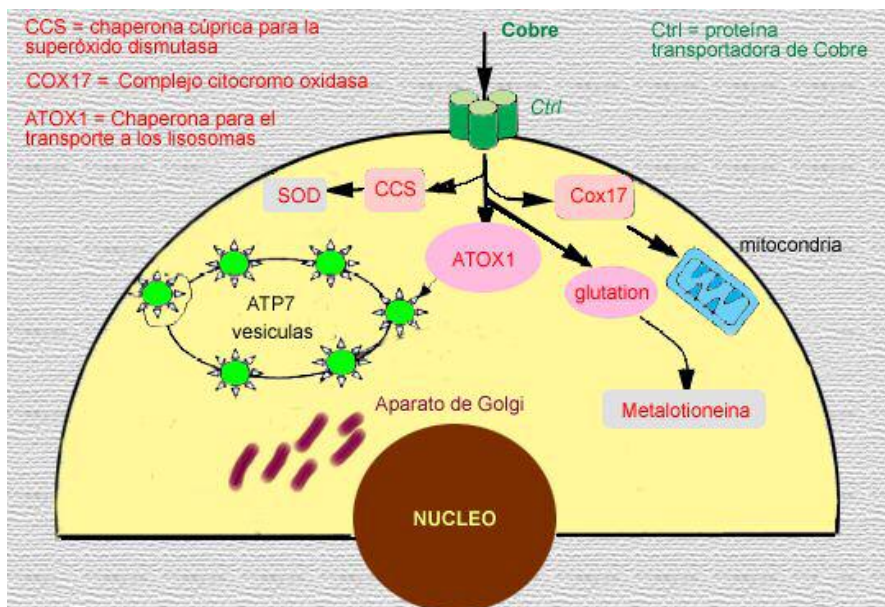
encontrada en solamente 1 (un mosaicismo 45X/46XX). Durante una revisión cromosómica sistemática de 167 muchachos sin relación con la enfermedad de Menkes, Tumer et al. (1992) encontraron una reordenación del cromosoma X que implicaba una inserción del segmento del brazo largo Xq13.3-q21.2 en el brazo corto en la banda Xp11.4, dando el cariotipo 46, XY, ins(X)(p11.4q13.3q21.2). La misma reestructuración del cromosoma X estaba presente, de novo, en la madre del muchacho, fenotípicamente normal. Diversos estudios indicaron que el cambio se originó en el abuelo materno. Este hallazgo apoya la localización del locus MNK en Xq13 y sugiere la subbanda Xq13.3. Hay muchos más estudios cromosómicos, con diversas reorganizaciones, que han orientado a la localización del gen.

LOCALIZACIÓN.-

Wieacker et al. (1983) realizaron estudios de ligamiento en una hermandad grande con el síndrome de Menkes usando una secuencia clonada de DNA, sonda que mapea en la porción proximal de Xp (entre Xcen y Xp113). Los resultados (Horn et al. (1984) demostraron ligamiento entre la enfermedad de Menkes y un polimorfismo centromérico con C-bandas. Otros estudios de ligamiento con 2 sondas, MGU22 (que está cerca del centromero) y L1.28 (que está en el segmento Xp110-Xp113), sugieren que el locus del gen Menkes es distal a L1.28 (revisado por Ropers et al., 1983). Wienker et al. (1983) sugirieron el siguiente como el orden más probable del gen: Xpter -- MS -- L1.28 -- MGU22. El mapa comparativo sugirió a Horn et al. (1984) que el locus de la enfermedad de Menkes está en el brazo largo cerca de la banda q13; De un análisis de 3 puntos, Tonnesen et al. (1986) concluyeron que el locus de Menkes está en el brazo largo del cromosoma X. Kapur et al. (1987) sugirieron que el gen del síndrome de Menkes pueda residir en la banda Xq13 debido a encontrar el síndrome de Menkes en una hembra con un traslocación balanceada de novo t(2;X). El punto de ruptura en el cromosoma X estaba en Xq13.1. Verga et al. (1991) refinaron la localización del locus MNK. Con cultivos celulares sucesivos y sondas específicas para los cromosomas X y 2 demostraron que el punto de ruptura en su paciente, y por tanto, probablemente el gen Menkes, mapea en una pequeña subregión de la banda Xq13.2-q13.3 distal a el resto de los locus Xq13 estudiados. Hershon (1988) concluyó del estudio de una traslocación X/A que el locus asienta cerca del límite entre Xq12 y Xq13, probablemente en Xq13.1. Sugio et al. (1998) describieron una muchacha japonesa con la enfermedad de Menkes debido a una traslocación recíproca de novo X;21, en la que un punto de ruptura en Xq13.3 había interrumpido el gen de ATP7A. Demostraron que el cromosoma X normal era de replicación tardía, mientras que el cromosoma alterado X era selectivamente de replicación temprana. Abusaad et al. (1999) divulgaron una mujer con las manifestaciones típicas de la enfermedad de Menkes que portaba una traslocación balanceada de novo de 46, X, t(X;13)(q13.3;q14.3). El diagnóstico fue confirmado por resultados de niveles bajos del cobre y de ceruloplasmina del suero con elevada captación de cobre en fibroblastos cultivados. Los autores interpretaron que la función del gen ATP7A había sido interrumpida por la traslocación, bien por una interrupción estructural o bien 'silenciándolo' como resultado de la inactivación localizada en un cromosoma activo con la traslocación X;13.

GENÉTICA MOLECULAR.-

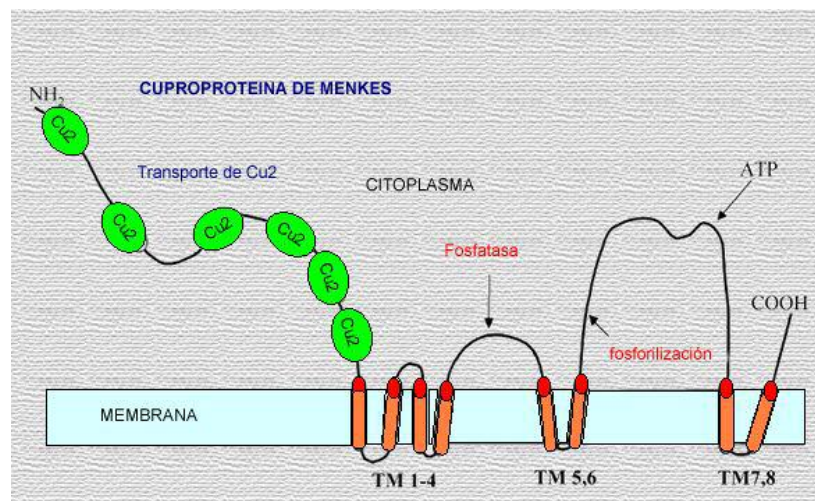
Tres grupos independientes, en San Francisco (Vulpe et al.,1993), Oxford (Chelly et al.,1993), y Michigan (Mercer et al.,1993), clonaron un gen candidato para la enfermedad de Menkes. Abordaron el gen directamente en los puntos de ruptura de la traslocación en Xq13.3, y tuvieron éxito al obtener un conjunto completo de clones correspondientes a un transcrito de 8,5 kb que codifica una proteína de 1500 aminoácidos. Encontraron fuerte homología con las ATPasas, tipo-P, una familia de proteínas de membrana integral que utilizan un intermediario del fosfato aspartil para transportar los cationes a través de las membranas. La proteína tiene las características de una proteína unida al cobre. Los experimentos demostraron que el mRNA de MNK está presente en una variedad de tipos celulares y de tejidos excepto el hígado, en el cual la expresión está reducida o ausente. Esto es consistente con la observación clínica de que el hígado es en gran parte inafectado en la enfermedad de Menkes y no puede acumular exceso de cobre. La proteína de MNK se localiza a la red de transporte del aparato de Golgi (TGN).



Esquema del Aparato de Golgi

(Petris et al., 1996). Los estudios con las células ováricas de hámster chino resistentes al cobre, por Petris et al. (1996) sugirieron que la proteína de MNK se mueve entre la red de Golgi y la membrana plasmática, dependiendo de la concentración del cobre dentro de la célula. Un importante número de proteínas residentes en la red de Golgi contienen señales específicas de localización y función en el transporte de cobre, y Francis et al. (1998) demostraron que esto es verdad también en el MNK. Por inmunofluorescencia, demostraron que la proteína recombinante integral de Menkes, en toda su longitud, la isoforma que no se expresa en el síndrome del cuerno occipital, se localiza en el aparato de Golgi, mientras que la forma alternativamente cortada, que carece de las secuencias para los dominios de transmembrana 3 y 4, codificados por el exón 10 y expresados en el síndrome del cuerno occipital, se localiza en el retículo endoplásmico. Por lo tanto, la secuencia de la proteína codificada por el exón 10 puede ser responsable de esta localización diferenciada y ambas isoformas pueden ser requeridas para el transporte amplio del cobre dentro de la célula.

Por análisis de microscopía electrónica e inmunología, la Fontaine et al. (1998) mapearon la proteína MNK en la TGN. Cuando la concentración de cobre extracelular fue aumentada, la proteína MNK en las células CHO fue redistribuida al citoplasma y a la membrana plasmática, pero volvió al TGN bajo condiciones bajas de cobre, básicas. Por lo tanto, la proteína de MNK se localiza preferentemente en el TGN; sin embargo, cuando las células se exponen al cobre excesivo es reclutada a la membrana del plasma donde funciona en el flujo del cobre. Bajo condiciones de cobre elevadas, la MNK marcada era reclutada a la membrana plasmática; sin embargo, la internalización de la proteína marcada no era inhibida, y la proteína continuaba su dispersión a través de los compartimentos citoplásmicos de la membrana. Estos resultados sugirieron que el cobre estimula el movimiento exocítico de la proteína MNK a la membrana más bien que reduciéndola del plasma e indica que MNK puede quitar el cobre del citoplasma transportándolo a las vesículas a través de las cuales desarrolla su ciclo.



Cuproproteína de Menkes.

Estudiando a 383 pacientes no relacionados, afectados con el síndrome de Menkes, Tumer et al. (2003) encontraron 57 con deleciones grandes en el gen de ATP7A (14.9%). A excepción de unos pocos casos, las deleciones grandes del gen dieron lugar a una forma clásica de enfermedad de Menkes con muerte en niñez temprana. Moller et al. (2005) identificaron 21 mutaciones sin sentido en el gen de ATP7A en pacientes con la enfermedad de Menkes. Las mutaciones fueron localizadas dentro de la parte conservada de ATP7A, entre los residuos val842 y ser1404. Diversos estudios demostraron que las mutaciones eran más espacialmente agrupadas que lo esperado de la secuencia primaria. Los autores sugirieron que algunas de las mutaciones puedan interferir con la unión del cobre.

PATOGENIA.-

Williams et al. (1977) realizaron estudios sobre el metabolismo y la terapia de cobre a largo plazo en la enfermedad de Menkes. Sander et al. (1988) describieron un paciente que sobrevivió a la edad de 13.5 años. La mayoría de los pacientes han muerto entre las edades de 6 meses y 3 años. La administración del cobre pudo haber ayudado en la supervivencia. En estudios de De Groot et al. (1989), la terapia de la vitamina C era ineficaz. Procopis et

al. (1981) describieron una forma intermedia, probablemente alélica. Ellos sugirieron que chicos atáxicos o mentalmente retrasados con pili torti deben ser investigados pensando en este síndrome.



Niño con S de M. Aspecto típico del pelo.



Visión posterior del mismo niño.

Westman et al. (1988) describieron un segundo niño con la forma atípica, que había sobrevivido 9 años y con buena evolución clínica. Danks (1988) informó sobre el progreso del paciente descrito por Procopis et al. (1981). Con 10 años, había sido tratado el paciente por muchos años con las inyecciones de histidinato de cobre. La ataxia y la disartria habían sido los problemas principales. No había desarrollado anomalías radiológicas en el cráneo o extremidades; en concreto, no se desarrolló ningún 'cuerno occipital'. Sherwood et al. (1989) encontraron resultados excelentes de la terapia subcutánea del histidinato de de cobre en 2 pacientes no relacionados, con la enfermedad clásica de Menkes. El histidinato de cobre es probablemente la forma en la cual el cobre cruza la barrera hematoencefálica (Hartter y Barnea, 1988). Uno de los pacientes desarrolló hipotensión ortostática ya que él prefería permanecer tumbado que de pie. El otro paciente tenía 2 divertículos masivos de la vejiga. Mientras que el cobre parenteralmente administrado en la

forma de sulfato de cobre o unido con EDTA no produce probablemente una mejora clínica substancial, Tumer et al. (1996) encontraron evidencia para la eficacia del histidinato de cobre, que está naturalmente presente en el suero y es cuantitativamente importante en el transporte de cobre. El histidinato de cobre parecía ser ineficaz cuando fue dado después de los meses primeros de la vida. Sin embargo, en 2 pacientes no relacionados con este desorden que nacieron prematuramente y recibieron el tratamiento temprano de histidinato de cobre, la respuesta era favorable (véase Sherwood et al. (1989) y Sarkar et al. (1993)). En el momento del informe de Tumer et al. (1996), estos pacientes tenían 19 y 9 años y presentaban un curso clínico más suave, caracterizado principalmente por las anomalías del tejido conectivo que recordaban al síndrome del cuerno occipital. Una cuestión sin resolver hacía referencia a la severidad de la enfermedad en cada caso. Uno de los pacientes tenía antecedentes familiares positivos que sugerían que él era obligado a la forma severa, pero la posibilidad de variación clínica intrafamiliar no podría ser excluida. Para clarificar estas cuestiones, Tumer et al. (1996) caracterizaron los defectos genéticos en el gen ATP7A. Con una combinación de análisis, detectaron una delección de un par de bases en un paciente en el exón 4 y en el exón 12 en el otro. Ambas mutaciones condujeron a una alteración del marco de lectura y crearon un codón prematuro de terminación dentro del mismo exón. El análisis de RT-PCR del RNA total de fibroblastos de ambos pacientes no demostró ninguna evidencia del exón cortado, indicando que la mutación dio lugar a proteínas seriamente truncadas. Concluyeron que se esperaba que el desorden fuera severo y que la terapia había sido eficaz. Una fotografía en papel del paciente con 9 años de edad, mostró su buen aspecto a la hora del informe. Christodoulou et al. (1998) describieron el curso clínico a largo plazo de 4 pacientes que sufrieron la enfermedad de Menkes tratada desde infancia temprana con histidinato de cobre parenteral, con seguimiento de 10 a 20 años. Los pacientes, 3 de los 4, tenían un curso clínico severo compatible con la enfermedad clásica de Menkes. Como consecuencia del tratamiento temprano, sus pacientes tenían desarrollo intelectual normal o casi-normal, pero desarrollaron muchas de las anomalías somáticas más severas del síndrome del cuerno occipital, incluyendo la hipotensión ortostática severa en 2. Además, 1 chico desarrolló una anomalía previamente no descrita: esplenomegalia e hiperesplenismo masivos como consecuencia de un aneurisma de la arteria esplénica. El paciente más viejo era de 20 años de edad al tiempo del informe. La hipotensión había sido un problema desde la edad de 14 años. Un episodio sincopal en la situación de pie fue asociado a bradicardia. El tratamiento con atropina dio lugar a un aumento enérgico en ritmo cardíaco y a una recuperación clínica rápida. Kanumakala et al. (2002) evaluaron los cambios minerales de la densidad del hueso después del tratamiento con pamidronate en niños con la enfermedad de Menkes. Tres niños con la enfermedad de Menkes y osteoporosis significativa con o sin fracturas patológicas todos recibieron el tratamiento del pamidronate por 1 año. Había 34 a 55% y 16 a 36% aumento de contenido mineral del hueso de la espina dorsal lumbar y de la densidad mineral ósea regional, respectivamente, tras 1 año del tratamiento con pamidronate. No había otras fracturas en 2 de los 3 niños tratados. No se observaron efectos nocivos del tratamiento del pamidronate. Kanumakala et al. (2002) sugirieron que el pamidronate pueda ser una modalidad eficaz del tratamiento para el control de la osteoporosis en niños con la enfermedad de Menkes. Olivares et al. (2006) describieron un

chico de 9 años de edad con la enfermedad de Menkes que había sido tratado con histidinato de cobre subcutáneo desde los 12 meses de edad. Aunque el tratamiento no previno el retraso del crecimiento severo y el retraso mental, los niveles normalizados de cobre en plasma y de ceruloplasmina, mejoró su tono, actividad de motor, e irritabilidad, y lo más importante, él nunca desarrolló convulsiones. El paciente tenía una mutación sin sentido en el gen ATP7A, que los autores sospecharon pudo haber dado lugar a una respuesta mejor a la terapia que una mutación más deletérea. En nuestro hospital se han visto últimamente dos casos de SM. Uno de ellos con la mutación de novo Gly727Arg, con componente neurológico importante que experimentó una gran mejoría con el tratamiento de cobre a los 7 meses (115 microgramos/Kg/día en una ampolla diaria). El otro presenta un cuadro de importante retraso evolutivo global, con la mutación c 1946+6T>C (IVS8+6 T>C), adquirida de su madre y poca mejoría con el tratamiento de cobre. (El estudio de Cu en sangre y orina se hace, en nuestro laboratorio, por Absorción atómica con valores normales en sangre: 70-140 mcg/100 y no-detectable en orina. La ceruloplasmina en sangre por Nefelometría con v n: 20-60 mg./dl)

INVESTIGACIONES.-

La serie de mutaciones en el ratón moteado puede ser homóloga al síndrome de Menkes (Hunt, 1974). La mutación 'moteada' en el hámster es también probablemente homóloga (Yoon, 1973). Brophy et al. (1988) estudiaron el aneurisma aórtico en el ratón moteado, en una serie de mutaciones. Los animales afectados tenían un aumento progresivo en el caso de aneurismas con la edad, alcanzando 100% en el plazo de 6 meses. La mayoría de los aneurismas ocurrieron en la aorta ascendente, con alguno también presentes en los segmentos torácicos y abdominales descendentes. Algunos animales tenían aneurismas múltiples. George et al. (1994) analizaron el Mnk del ratón, un locus homólogo a la enfermedad de Menkes, en ratones normales y ratones con el fenotipo moteado. Los ratones machos con el alelo Moteado acumulan el cobre en el intestino, no pueden exportar el cobre a los órganos periféricos, y mueren algunas semanas después del nacimiento. Mucho del cobre intestinal encontrado en ratones moteados está unido a la metalotioneina (MA); Para determinar la función de la MA en la presencia de la deficiencia de Atp7a, Kelly y Palmiter (1996) cruzaron a hembras moteadas con los machos moteados. Sobre un fondo de déficit de metalotioneina, la mayoría de los machos moteados, así como hembras moteadas heterocigotas murieron antes del día embrionario 11. Los autores explicaron la mortalidad en hembras por la inactivación preferencial del cromosoma X paterno en tejidos embrionarios y resultando toxicidad por el cobre en ausencia de MT. En ayuda de esta hipótesis, Kelly y Palmiter (1996) encontraron que las líneas de la célula derivadas del déficit de metalotioneina, los embriones moteados eran muy sensibles a la toxicidad de cobre. Concluyeron que la MA es esencial para proteger contra la toxicidad de cobre en la placenta embrionaria, proporcionando una segunda línea de defensa cuando los flujos de cobre son defectuosos. También indicaron que la MA protege probablemente contra toxicidad de cobre hepática en la enfermedad de Wilson y el modelo de rata LEC en los cuales un flujo de cobre similar, es defectuoso, porque la MA se acumula en altos niveles en el hígado en esas enfermedades.

La naturaleza de la mutación en el ratón moteado es de importancia para entender el papel normal de la proteína codificada por ATP7A y para idear las estrategias del tratamiento para la enfermedad de Menkes. Grimes et al. (1997) demostraron que el ratón moteado tiene una delección de 2 aminoácidos en una región del gen *Atp7a*, altamente conservada y funcionalmente generalizada. También presentaron los datos para el producto normal del gen en diferentes tejidos. En el riñón, la inmunohistoquímica demostró la proteína en túbulos proximales y distales, con una distribución idéntica en mutante y ratones normales. Esta distribución era considerada consistente con el hecho de que la proteína estaba implicada en la reabsorción de cobre de la orina. Masson et al. (1997) estudiaron la captación y la retención de cobre en los cultivos de fibroblastos establecidos a partir de diversas mutaciones y de varios controles. Ambos grupos de mutantes eran diferenciados de los controles por análisis de la retención y de la captación del cobre. Los valores obtenidos eran iguales que los divulgados previamente para los fibroblastos humanos establecidos de pacientes con la enfermedad de Menkes, pero no se encontró ningunas diferencias significativas con los alelos asociados a supervivencia y a la muerte prenatal.

De Bie et al en un reciente trabajo concluyen que el cobre es esencial para una variedad de procesos biológicos, pero extremadamente tóxico cuando está presente en cantidades excesivas. Por lo tanto, las concentraciones de este metal en el cuerpo se guardan bajo control estricto. Los reguladores centrales del metabolismo de cobre celular son las ATPasas transportadoras del cobre ATP7A y ATP7B. Las mutaciones en ATP7A o ATP7B interrumpen el equilibrio de cobre homeostático, dando por resultado la deficiencia de cobre (enfermedad de Menkes) o la sobrecarga de cobre (enfermedad de Wilson), respectivamente. ATP7A y ATP7B ejercen sus funciones en el transporte de cobre a través de una variedad de mecanismos interdependientes y de los acontecimientos reguladores, incluyendo la actividad catalítica de la ATPasa, el tráfico inducido por el cobre, las modificaciones post- traslacionales y las interacciones de la proteína-proteína. Este artículo repasa los esfuerzos extensos que se han emprendido durante los últimos años para desentrañar y caracterizar estos mecanismos, y cómo éstos se afectan en la enfermedad de Menkes y de Wilson. Como ambos desórdenes son caracterizados por una heterogeneidad clínica amplia, aconsejan relacionar el defecto genético con la función molecular de ATP7A y de ATP7B y con la expresión clínica de estos desórdenes.

Bertini et al en un artículo en enero de este año, determinan que la enfermedad de Menkes está causada por mutaciones en la proteína transportadora del cobre ATP7A. La ATP7A tiene una función doble: sirve para incorporar el cobre en las enzimas cobre-dependientes, y mantiene niveles de cobre intracelulares eliminando el exceso de cobre del citosol. Para lograr ambas funciones, la proteína se traslada entre diversas localizaciones celulares dependiendo de los niveles de cobre. El mecanismo para detectar la concentración del cobre, para trasladarse, así como los detalles del desplazamiento del cobre a través de la membrana son desconocidos.

Aldenhoven M et al, en otra reciente revisión de la enfermedad de Menkes, insisten en que es un desorden recesivo X-ligado caracterizado por el deterioro neurológico, falta de maduración, el pelo peculiar y la muerte en la niñez, secundaria a las mutaciones en el gen ATP7A. El gen ATP7A codifica una proteína de transporte de cobre, una ATPasa (ATP7A), con expresión ubicua.

Un defecto de la proteína de ATP7A conduce a un transporte reducido del cobre desde el intestino a la circulación y al sistema nervioso central, así como el transporte reducido del cobre en el aparato de Golgi para la incorporación en las varias enzimas cobre-dependientes. Esto da lugar a una deficiencia de cobre sistémico así como la actividad reducida de varias enzimas cobre-dependientes. La actividad reducida de estas enzimas cobre-dependientes condiciona la mayoría de las características de los pacientes de la enfermedad de Menkes.

Bindu PS, et al describen un niño de 11 meses de edad con la enfermedad de Menkes que se manifestó con retraso global y convulsiones mioclónicas. Tenía escaso e hipopigmentado el cabello y zonas con alopecia. Había cifras bajas de ceruloplasmina en suero (5 mg/dL) y de cobre (24.2 microg/dL). La neuroimagen del cerebro reveló atrofia cerebral marcada y un retraso significativo en la mielinización. La angiografía de la resonancia magnética demostró los vasos sanguíneos cerebrales y del cuello tortuosos. Había respuesta terapéutica pobre al tratamiento sintomático.

Donsante et al apoyan que, aunque la variabilidad intrafamiliar marcada es inusual en la enfermedad de Menkes y sus variantes, esta variabilidad puede ser explicada por factores genéticos y no genéticos.

El Meskini et al buscan en la enfermedad de Menkes una explicación al desorden neurodegenerativo causado por las mutaciones en el transportador de cobre, ATP7A, una proteína tipo ATPasa. Utilizan el sistema olfativo para demostrar que la expresión de ATP7A está defectuosa por alteración en la sinaptogénesis cuando se expresa en axones que se desarrollan en un ambiente de déficit de cobre. El análisis in vivo del sistema olfativo en ratón moteado, un modelo del roedor para la enfermedad de Menkes, demuestra que la deficiencia de ATP7A afecta la maduración sensorial olfativa de la neurona (OSN). Las proyecciones alteradas del axón y el crecimiento desordenado de las dendritas de la célula conducen a la integridad alterada de la sinapsis y a la desorganización glomerular en los bulbos olfativos de los ratones. Estos datos indican que las anomalías neuronales observadas en la enfermedad de Menkes son un resultado de defectos de desarrollo edad-dependientes específicos. Este estudio demuestra el papel de ATP7A y/o el cobre en conseguir la sinaptogénesis del axón, y ayudará a identificar la causa de la neuropatología que caracteriza esta enfermedad.

CONCLUSIÓN.-

El tratamiento actual es meramente paliativo, se administra histidinato de cobre por vía parenteral. Si se inicia rápidamente el tratamiento, se previenen los signos neurológicos y se prolonga la supervivencia.

Sin embargo, no es posible evitar el desarrollo de otras manifestaciones (hipotensión ortostática, aneurismas, diarrea crónica). El éxito de la terapia sustitutiva del cobre es variable, probablemente dependiendo del tipo de mutación. Estos estudios y otros más que están en marcha, nos abre una puerta a la esperanza y nos hacen confiar que en un futuro no muy lejano habrá un rápido conocimiento de los mecanismos que subyacen en la patogenia del SM y en un eficaz tratamiento que haga que estos enfermos puedan integrarse en un desarrollo psicomotor normalizado.

BIBLIOGRAFÍA.-

- Abusaad, I.**; Mohammed, S. N.; Ogilvie, C. M.; Ritchie, J.; Pohl, K. R. E.; Docherty, Z. : Clinical expression of Menkes disease in a girl with X;13 translocation. *Am. J. Med. Genet.* 87: 354-359, 1999.
- Aldenhoven M**, Klomp LW, van Hasselt PM, de Koning TJ, Visser G. From gene to disease; Menkes disease: copper deficiency due to an ATP7A- gene defect. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2007Oct13;151(41):2266-70.
- Bertini I**, Rosato A. Menkes disease. *Cell Mol Life Sci.* 2008 Jan;65(1):89-91.
- Bindu PS**, Sinha S, Taly AB, Kovur JM, Gayathri N, Arunodaya GR Menkes syndrome presenting as myoclonic seizures: neuroimaging and EEG observations. *J Child Neurol.* 2007 Apr;22(4):452-5.
- Bray, P. F.** : Sex-linked neurodegenerative disease associated with monilethrix. *Pediatrics* 36: 417-420, 1965.
- Brophy, C. M.**; Tilson, J. E.; Braverman, I. M.; Tilson, M. D. : Age of onset, pattern of distribution, and histology of aneurysm development in a genetically predisposed mouse model. *J. Vasc. Surg.* 8:45-48, 1988.
- Chelly, J.**; Tumer, Z.; Tonnesen, T.; Petterson, A.; Ishikawa-Brush, Y.; Tommerup, N.; Horn, N.; Monaco, A. P. : Isolation of a candidate gene for Menkes disease that encodes a potential heavy metal binding protein. *Nature Genet.* 3: 14-19, 1993.
- Christodoulou, J.**; Danks, D. M.; Sarkar, B.; Baerlocher, K. E.; Casey, R.; Horn, N.; Tumer, Z.; Clarke, J. T. R. : Early treatment of Menkes disease with parenteral copper (sic)-histidine: long-term follow-up of four treated patients. *Am. J. Med. Genet.* 76: 154-164, 1998.
- Collie, W. R.**; Goka, T. J.; Moore, C. M.; Howell, R. R. : Hair in Menkes disease: a comprehensive review. In: Brown, A. C.; Crouse, R. G. (eds.) : *Hair, Trace Elements, and Human Illness.* New York: Praeger Publ. (pub.) 1980. Pp. 197-209.
- Danks, D. M.** : The mild form of Menkes disease: progress report on the original case. *Am. J. Med. Genet.* 30: 859-864, 1988.
- Danks, D. M.**; Campbell, P. E.; Stevens, B. J.; Mayne, V.; Cartwright, E. : Menkes' kinky hair syndrome: an inherited defect in copper absorption with widespread effects. *Pediatrics* 50: 188-201, 1972.
- Danks, D. M.**; Cartwright, E.; Campbell, P. E.; Mayne, V. : Is Menkes' syndrome a heritable disorder of connective tissue?. (Letter) *Lancet* II: 1089, 1971.
- De Bie, P.**; Muller, P.; Wijmenga, C.; Klomp, L. W. J. : Molecular pathogenesis of Wilson and Menkes disease: correlation of mutations with molecular defects and disease phenotypes. *J. Med. Genet.* 44: 673-688, 2007.
- De Groot, C. J.**; Wijburg, F. A.; Barth, P. G.; Bolhuis, P. A.; Peelen, W.; Abeling, N. G. G. M.; van den Hamer, C. J. A. : Vitamin C treatment in Menkes' disease: failure to affect biochemical and clinical parameters. *J. Inherit. Metab. Dis.* 12 (suppl. 2): 389-392, 1989.
- Donsante A**, Tang J, Godwin SC, Holmes CS, Goldstein DS, Bassuk A, Kaler SG. Differences in ATP7A gene expression underlie intrafamilial variability in Menkes disease/occipital horn syndrome. *J Med Genet.* 2007 Aug;44(8):492-7.
- El Meskini R**, Crabtree KL, Cline LB, Mains RE, Eipper BA, Ronnett GV. ATP7A (Menkes protein) functions in axonal targeting and synaptogenesis. *Mol Cell Neurosci.* 2007 Mar;34(3):409-21.
- Francis, M. J.**; Jones, E. E.; Levy, E. R.; Ponnambalam, S.; Chelly, J.; Monaco, A. P. : A Golgi localization signal identified in the Menkes recombinant protein. *Hum. Molec. Genet.* 7: 1245-1252, 1998.
- French, J. H.**; Sherard, E. S. : Studies of the biochemical basis of kinky hair disease. (Abstract) *Pediat. Res.* 1: 206, 1967.
- George, A. M.**; Reed, V.; Glenister, P.; Chelly, J.; Tumer, Z.; Horn, N.; Monaco, A. P.; Boyd, Y. : Analysis of Mnk, the murine homologue of the locus for Menkes disease, in normal and mottled mice. *Genomics* 22: 27-35, 1994.
- Gerard-Blanluet, M.**; Birk-Moller, L.; Horn, N.; Caubel, I.; Gelot, A.; Billette de Villemeur, T. : Early development of occipital horns in a classical Menkes patient. (Letter) *Am. J. Med. Genet.* 130A: 211-213, 2004.
- Gerdes, A.-M.**; Tonnesen, T.; Horn, N.; Grisar, T.; Marg, W.; Muller, A.; Reinsch, R.; Barton, N. W.; Guiraud, P.; Joannard, A.; Richard, M. J.; Guttler, F. : Clinical expression of Menkes syndrome in females. *Clin. Genet.* 38: 452-459, 1990.
- Goka, T. J.**; Stevenson, R. E.; Hefferan, P. M.; Howell, R. : Menkes disease: a biochemical abnormality in cultured human fibroblasts. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 73: 604-606, 1976.
- Grimes, A.**; Hearn, C. J.; Lockhart, P.; Newgreen, D. F.; Mercer, J. F. B. : Molecular basis of

the brindled mouse mutant (Mo-br): a murine model of Menkes disease. *Hum. Molec. Genet.* 6: 1037-1042, 1997.

Hartter, D. E.; Barnea, A. : Brain tissue accumulates (64)copper by two ligand-dependent saturable processes. *J. Biol. Chem.* 263: 799-805, 1988.

Hershon, K. : Personal Communication. New York, N. Y., 10/13/1988.

Horn, N. : Personal Communication. Copenhagen, Denmark, 2/25/1999.

Horn, N.; Stene, J.; Mollekaer, A.-M.; Friedrich, U. : Linkage studies in Menkes disease: the Xg blood group system and C-banding of the X chromosome. *Ann. Hum. Genet.* 48: 161-172, 1984.

Hunt, D. M. : Primary defect in copper transport underlies mottled mutants in the mouse. *Nature* 249: 852-854, 1974.

Jankov, R. P.; Boerkoel, C. F.; Hellmann, J.; Sirkin, W. L.; Tumer, Z.; Horn, N.; Feigenbaum, A. : Lethal neonatal Menkes' disease with severe vasculopathy and fractures. *Acta Paediat.* 87: 1297-1300, 1998.

Kanumakala, S.; Boneh, A.; Zacharin, M. : Pamidronate treatment improves bone mineral density in children with Menkes disease. *J. Inherit. Metab. Dis.* 25: 391-398, 2002.

Kapur, S.; Higgins, J. V.; Delp, K.; Rogers, B. : Menkes syndrome in a girl with X-autosome translocation. *Am. J. Med. Genet.* 26: 503-510, 1987.

Kelly, E. J.; Palmiter, R. D. : A murine model of Menkes disease reveals a physiological function of metallothionein. *Nature Genet.* 13: 219-222, 1996.

La Fontaine, S.; Firth, S. D.; Lockhart, P. J.; Brooks, H.; Parton, R. G.; Camakaris, J.; Mercer, J. F. B. : Functional analysis and intracellular localization of the human Menkes protein (MNK) stably expressed from a cDNA construct in Chinese hamster ovary cells (CHO-K1). *Hum. Molec. Genet.* 7: 1293-1300, 1998.

Masson, W.; Hughes, H.; Papworth, D.; Boyd, Y.; Horn, N. : Abnormalities of copper accumulation in cell lines established from nine different alleles of mottled are the same as those found in Menkes disease. *J. Med. Genet.* 34: 729-732, 1997.

McKusick, V. A. : Heritable Disorders of Connective Tissue. St. Louis: C. V. Mosby (pub.) (4th ed.) 1972. Pp. 712-713. Note: Fig. 12-10.

Menkes, J. H. : Kinky hair disease. *Pediatrics* 50: 181-182, 1972.

Menkes, J. H. : Kinky hair disease: twenty five years later. *Brain Dev.* 10: 77-79, 1988.

Menkes, J. H.; Alter, M.; Steigleder, G. K.; Weakley, D. R.; Sung, J. H. : A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics* 29: 764-779, 1962.

Mercer, J. F. B.; Livingston, J.; Hall, B.; Paynter, J. A.; Begy, C.; Chandrasekharappa, S.; Lockhart, P.; Grimes, A.; Bhav, M.; Siemieniak, D.; Glover, T. W. : Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by positional cloning. *Nature Genet.* 3: 20-25, 1993.

Moller, L. B.; Bukrinsky, J. T.; Molgaard, A.; Paulsen, M.; Lund, C.; Tumer, Z.; Larsen, S.; Horn, N. : Identification and analysis of 21 novel disease-causing amino acid substitutions in the conserved part of ATP7A. *Hum. Mutat.* 26: 84-93, 2005.

O'Brien, J. S. : Personal Communication. Los Angeles, Calif., 1968.

Olivares, J. L.; Bueno, I.; Gallati, S.; Ramos, F. J. : Late-onset treatment in Menkes disease: is there a correlation between genotype and response to therapy? (Letter) *Clin. Genet.* 69: 363-366, 2006.

Osaka, K.; Sato, N.; Matsumoto, S.; Ogino, H.; Kadama, S.; Yokoyama, S.; Sugiyama, T. : Congenital hypocupraemia syndrome with and without steely hair: report of two Japanese infants. *Dev. Med. Child Neurol.* 19: 62-68, 1977.

Peltonen, L.; Kuivaniemi, H.; Palotie, A.; Horn, N.; Kaitila, I.; Kivirikko, K. I. : Alterations in copper and collagen metabolism in the Menkes syndrome and a new subtype of the Ehlers-Danlos syndrome. *Biochemistry* 22: 6156-6163, 1983.

Petris, M. J.; Mercer, J. F.; Culvenor, J. G.; Lockhart, P.; Gleeson, P. A.; Camakaris, J. : Ligand-regulated transport of the Menkes copper P-type ATPase efflux pump from the Golgi apparatus to the plasma membrane: a novel mechanism of regulated trafficking. *EMBO J.* 15: 6084-6095, 1996.

Petris, M. J.; Mercer, J. F. B. : The Menkes protein (ATP7A; MNK) cycles via the plasma membrane both in basal and elevated extracellular copper using a C-terminal di-leucine endocytic signal. *Hum. Molec. Genet.* 8: 2107-2115, 1999.

Procopis, P.; Camakaris, J.; Danks, D. M. : A mild form of Menkes steely hair syndrome. *J. Pediat.* 98: 97-99, 1981.

Proud, V. K.; Mussell, H. G.; Kaler, S. G.; Young, D. W.; Percy, A. K. : Distinctive Menkes disease variant with occipital horns: delineation of natural history and clinical phenotype. *Am. J. Med. Genet.* 65: 44-51, 1996.

Ropers, H.-H.; Wieacker, P.; Wienker, T. F.; Davies, K.; Williamson, R. : On the genetic length of the short arm of the human X chromosome. *Hum. Genet.* 65: 53-55, 1983.

Sander, C.; Niederhoff, H.; Horn, N. : Life-span and Menkes kinky hair syndrome: report of a 13-year course of this disease. *Clin. Genet.* 33: 228-233, 1988.

Sarkar, B.; Ligertat-Walsh, K.; Clarke, J. T. R. : Copper-histidine therapy for Menkes disease. *J. Pediat.* 123: 828-830, 1993.

Scheinberg, I. H.; Collins, J. C. : Menkes' disease: a disorder of zinc metabolism? (Letter) *Lancet* I: 619, 1989. Sherwood, G.; Sarkar, B.; Sass Kortsak, A. : Copper histidinate therapy in Menkes' disease: prevention of progressive neurodegeneration. *J. Inherit. Metab. Dis.* 12 (suppl. 2): 393-396, 1989.

Sugio, Y.; Sugio, Y.; Kuwano, A.; Miyoshi, O.; Yamada, K.; Niikawa, N.; Tsukahara, M. : Translocation t(X;21)(q13.3;p11.1) in a girl with Menkes disease. *Am. J. Med. Genet.* 79: 191-194, 1998.

Tonnesen, T.; Garrett, C.; Gerdes, A.-M. : High (64)Cu uptake and retention values in two clinically atypical Menkes patients. *J. Med. Genet.* 28: 615-618, 1991.

Tonnesen, T.; Gerdes, A. M.; Horn, N.; Friedrich, U.; Grisar, T.; Muller, A. : Localization of the Menkes gene to the long arm of the X-chromosome. (Abstract) *7th Int. Cong. Hum. Genet., Berlin* 627, 1986.

Tonnesen, T.; Kleijer, W. J.; Horn, N. : Incidence of Menkes disease. *Hum. Genet.* 86: 408-410, 1991.

Tumer, Z.; Horn, N. : Menkes disease: recent advances and new aspects. *J. Med. Genet.* 34: 265-274, 1997.

Tumer, Z.; Horn, N.; Tonnesen, T.; Christodoulou, J.; Clarke, J. T. R.; Sarkar, B. : Early copper-histidine treatment for Menkes disease. (Letter) *Nature Genet.* 12: 11-13, 1996.

Tumer, Z.; Moller, L. B.; Horn, N. : Screening of 383 unrelated patients affected with Menkes disease and finding of 57 gross deletions in ATP7A. *Hum. Mutat.* 22: 457-464, 2003.

Tumer, Z.; Tommerup, N.; Tonnesen, T.; Kreuder, J.; Craig, I. W.; Horn, N. : Mapping of the Menkes locus to Xq13.3 distal to the X-inactivation center by an intrachromosomal insertion of the segment Xq13.3-q21.2. *Hum. Genet.* 88: 668-672, 1992.

Verga, V.; Hall, B. K.; Wang, S.; Johnson, S.; Higgins, J. V.; Glover, T. W. : Localization of the translocation breakpoint in a female with Menkes syndrome to Xq13.2-q13.3 proximal to PGK-1. *Am. J. Hum. Genet.* 48: 1133-1138, 1991.

Vulpe, C.; Levinson, B.; Whitney, S.; Packman, S.; Gitschier, J. : Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase. *Nature Genet.* 3: 7-13, 1993.

Wakai, S.; Ishikawa, Y.; Nagaoka, M.; Okabe, M.; Minami, R.; Hayakawa, T. : Central nervous system involvement and generalized muscular atrophy in occipital horn syndrome: Ehlers-Danlos type IX--a first Japanese case. *J. Neurol. Sci.* 116: 1-5, 1993.

Wesenberg, R. L.; Gwinn, J. L.; Barnes, G. R., Jr. : Radiological findings in the kinky-hair syndrome. *Radiology* 92: 500-506, 1969.

Westman, J. A.; Richardson, D. C.; Rennert, O. M.; Morrow, G., III : Atypical Menkes steely hair disease. *Am. J. Med. Genet.* 30: 853-858, 1988.

Wieacker, P.; Horn, N.; Pearson, P.; Wienker, T. F.; McKay, E.; Ropers, H. H. : Menkes kinky hair disease: a search for closely linked restriction fragment length polymorphism. *Hum. Genet.* 64: 139-142, 1983.

Wienker, T. F.; Wieacker, P.; Cooke, H. J.; Horn, N.; Ropers, H.-H. : Evidence that the Menkes locus maps on proximal Xp. *Hum. Genet.* 65: 72-73, 1983.

Williams, D. M.; Atkin, C. L.; Frens, D. B.; Bray, P. F. : Menkes kinky hair syndrome--studies of copper metabolism and long term copper therapy. *Pediat. Res.* 11: 823-826, 1977.

Williams, R. S.; Marshall, P. C.; Lott, I. T.; Caviness, V. S., Jr. : The cellular pathology of Menkes' steely hair syndrome. *Neurology* 28: 575-583, 1978.

Yoon, C. H. : Recent advances in Syrian hamster genetics. *J. Hered.* 64: 305-307, 1973.

Yoshida, T.; Tada, K.; Mizuno, T.; Wada, Y.; Akabane, J.; Ogasawara, J.; Minagawa, A.; Morikawa, T.; Okamura, T. : A sex-linked disorder with mental and physical retardation characterized by cerebrocortical atrophy and increase of glutamic acid in the cerebrospinal fluid. *Tohoku J. Med. Sci.* 83: 261-269, 196