

# Coma iperammoniemico in un paziente con deficit di OTC

*Hyperammonemic coma in a patient with late-onset OTC deficiency*

V. D'Onofrio,<sup>1</sup> F. Poma,<sup>1</sup> A. Enea,<sup>1</sup> F. Santarelli,<sup>1</sup> C. Lovera,<sup>1</sup> M. Spada<sup>1</sup>

*Key words: hyperammonemic coma, OTC, Urea Cycle disorder*

## Abstract

Urea Cycle Disorders (UCD) are among the most common genetic diseases of the metabolism and ornithine transcarbamylase deficiency (OTC), an X-linked defect is the most frequent among them. It is responsible for hyperammonemia that can lead to chronic neurological illness and potentially to death in case of delayed diagnosis and treatment.

With regards to the OTC deficiency there is great clinical heterogeneity with early-onset phenotypes with mostly poor prognosis and late-onset phenotypes with a better one.

In the article it is reported the case of a 8 years old patient with diagnosis of OTC deficit with late-onset phenotype. The kid was brought to our hospital because of continuous vomiting and gastro-intestinal disorders, associated with irritability and lethargy later resulted into coma.

Measurement of plasma ammonia concentration, followed by measurement of plasma amino acid and urine orotic acid levels allowed to diagnose the OTC deficit, lately confirmed by molecular genetic studies. The patient has been promptly treated with Sodium Phenylbutyrate, Arginine and discontinuing the protein intake. Gradually the ammonemia value decreased, and general and neurological conditions improved with resolution of the coma.

To conclude, for patients presenting unexplained neurological symptoms, confusion and decreased level of consciousness, up to coma, urea cycle disorders and in particularly OTC deficiency should be considered in the differential diagnosis and an urgent ammonia level determined. In case of hyperammonemia, the treatment should be started immediately, even without a precise etiologic diagnosis.

## Riassunto

I difetti del ciclo dell'urea sono fra le più comuni patologie ereditarie del metabolismo e fra queste il deficit di ornitina transcarbamilasi (OTC), a trasmissione X-linked è la più frequente ed è responsabile di una condizione di iperammonemia che se non diagnosticata e trattata tempestivamente può esitare in gravi e irreversibili danni neurologici e potenzialmente portare a morte. Nell'ambito del deficit di OTC esiste una grande eterogeneità clinica con fenotipi early-onset (neonatali) a prognosi per lo più infausta e fenotipi late-onset a prognosi migliore.

Nell'articolo viene riportato il caso di un paziente di 8 anni con diagnosi di deficit di OTC con fenotipo late-onset. Il bambino è stato portato in ospedale per la comparsa da alcuni giorni di vomito profuso e dolori addominali diffusi, accompagnati da agitazione psicomotoria alternata a sopore che è esitato in coma. Il dosaggio dell'ammoniemia, degli amminoacidi plasmatici e dell'acido orotico urinario hanno permesso la diagnosi di deficit di OTC, successivamente confermata dall'analisi genetica. Il paziente è stato trattato tempestivamente con Na Fenilbutirrato, Arginina e dieta aproteica e progressivamente i valori di ammoniemia si sono stabilizzati, e le condizioni generali e neurologiche sono migliorate con risoluzione del coma.

In conclusione è fondamentale in ogni paziente con sintomi neurologici inspiegati e alterazioni dello stato di coscienza fino al coma porre il sospetto di malattia metabolica quale un difetto del ciclo dell'urea, dosare in urgenza l'ammoniemia e in caso di aumento iniziare subito la terapia anche in assenza di una diagnosi eziologica precisa.

## Introduzione

I difetti del ciclo dell'urea sono fra le più comuni patologie ereditarie del metabolismo, con un'incidenza cumulativa di 1:8000 nati vivi, e possono interessare ogni tappa di questo processo metabolico, che ha la funzione di eliminare le scorie azotate provenienti dal catabolismo delle proteine corporee e della dieta.<sup>1,2</sup>

Il deficit di OTC (Ornitina transcarbamilasi), patologia a trasmissione X-linked è il difetto enzimatico più frequente, con un'

<sup>1</sup> Dipartimento per le Malattie Metaboliche, O.I.R.M, Torino

incidenza di 1:14000 nati vivi.<sup>3</sup> OTC è un enzima mitocondriale, espresso esclusivamente nel fegato e nella mucosa intestinale di tutti gli organismi, che catalizza la sintesi di citrullina a partire da carbamilfosfato e ornitina. Il gene OTC è localizzato sul braccio corto del cromosoma X ( ch. Xp21.1 ), è costituito da 1062 nucleotidi, si estende per 73 kb e le regioni codificanti sono contenute in 10 esoni, inframezzati da 9 introni non codificanti; su di esso sono state riscontrate 341 mutazioni responsabili di malattia.<sup>4</sup>

Il deficit di OTC, così come gli altri difetti del ciclo dell'urea è responsabile di una condizione di iperammonemia causata dall'impossibilità di eliminare le scorie azotate per il blocco metabolico. Elevate concentrazioni di ammonio nel plasma sono tossiche e un ritardo nella diagnosi e nel trattamento dell'iperammonemia possono esitare in gravi e irreversibili danni neurologici e potenzialmente portare a morte ; per questo motivo è considerata un'emergenza medica. Il grado di iperammonemia e il fenotipo della malattia dipendono da diversi fattori fra cui l'enzima coinvolto e la sua attività residua, che a loro volta sono strettamente correlati alla mutazione genetica.

Nell'ambito del deficit di OTC si osserva dunque una grande eterogeneità clinica con fenotipi neonatali (early onset) a maggior gravità e prognosi per lo più infausta e fenotipi late onset a maggior variabilità clinica e prognosi migliore.

I pazienti con fenotipo neonatale sono caratterizzati da mutazioni severe ( missense, nonsense, delezioni, inserzioni ) che inibiscono totalmente l'attività dell'enzima coinvolto, esordio dopo le prime 24 ore di vita con coma neonatale iperammoniemico e potenziale exitus.

I pazienti con fenotipo late-onset sono invece caratterizzati da mutazioni ( per lo più di tipo missense ) che permettono una certa attività residua all'enzima, ed esordio fra i 6 mesi e i 70 anni con manifestazioni neurologiche quali coma e atassia ricorrente, manifestazioni digestive quali epatopatia e vomito ricorrente e manifestazioni psichiatriche. (5,6,7)

Molto importante è inoltre l'eterogeneità clinica nelle femmine eterozigoti per la mutazione che possono presentare quadri clinici variabili anche all'interno della stessa famiglia: nella maggior parte dei casi esse sono asintomatiche, e rimangono tali per tutta la vita ; solo il 15 % manifesta dei sintomi, per lo più aspecifici e ad esordio tardivo che rendono difficile la diagnosi, specialmente se non è presente una storia familiare positiva. Infine alcune, con mutazioni gravi, possono sviluppare un grave deterioramento neurologico con encefalopatia ed esordio neonatale, simile a quello che si osserva nei maschi emizigoti. Questa variabilità riflette l'eterogeneità genotipica e il fenomeno della lyonizzazione ( inattivazione casuale di un cromosoma X ).<sup>(8)</sup> I maschi emizigoti per la mutazione presentano solitamente un fenotipo grave, con esordio nel primo anno di vita , mentre sono poco comuni quadri clinici intermedi per mutazioni genetiche meno gravi.<sup>9</sup> Per la diagnosi fondamentale è il dosaggio dell'ammoniemia ( > 150  $\mu\text{mol/L}$  ) degli amminoacidi plasmatici e dell'acido orotico urinario che risultano aumentati; la conferma diagnostica si ottie-

ne mediante valutazione dell'attività enzimatica sugli epatociti e analisi genetica.<sup>5</sup>

L'obiettivo della terapia è rappresentato dall'eliminazione urinaria dell'ammonio mediante vie metaboliche alternative con l'utilizzo dei chelanti quali Na-Benzato e Na-Fenilbutirrato, e dalla sostituzione dei metaboliti deficitari (Citrullina e Arginina) in associazione a una dieta ipoproteica.<sup>5</sup> La terapia enzimatica cellulare mediante trapianto di fegato rappresenta una valida alternativa, soprattutto nei pazienti con malattia grave e refrattari a terapia medica.<sup>6</sup>

## Pazienti / Metodi

Un paziente di 8 anni viene portato in ospedale per la comparsa dal giorno precedente di vomito profuso e dolori addominali diffusi. All'arrivo in ospedale presenta agitazione psicomotoria intensa, alternata a momenti di sopore. In precedenza è sempre stato in buona salute. Agli esami eseguiti viene riscontrata iperammonemia, alterazione delle prove emogeniche e riscontro all'EEG di segni di sofferenza cerebrale diffusa. Viene eseguita TC d'urgenza con riscontro di sfumata ipodensità della sostanza bianca parietale da entrambi i lati mentre successivamente alla RM dell'encefalo non si osservano alterazioni del segnale dei tessuti encefalici sopra e sotto tentoriali.

Per ulteriore peggioramento delle condizioni neurologiche e comparsa di coma è stato trasferito in Rianimazione, dove in seguito alla riconferma dell'iperammonemia (746  $\mu\text{mol/L}$ ; v.n. < 80  $\mu\text{mol/L}$ ) si è iniziata la terapia chelante endovenosa con Sodio Benzoato (bolo di 250 mg/Kg seguito da una dose di mantenimento di 250 mg/Kg/die, la terapia sostitutiva con Arginina (bolo di 250 mg/Kg/die seguita da dose di mantenimento di 250 mg/Kg/die), una glucosata al 10%, e il supporto nutrizionale apteico con rapida discesa dell'ammoniemia.

Vengono eseguiti gli esami metabolici che permettono un rapido inquadramento diagnostico: la cromatografia degli amminoacidi plasmatici mostra elevate concentrazioni di glutammina e ornitina, e normali concentrazioni di citrullina in associazione con una massiva escrezione urinaria di acido orotico (500 mmol/mol Creatinina; v.n. < 10 mmol/mol Creatinina ), compatibili con un difetto del ciclo dell'urea da deficit di ornitina transcarbamilasi ( OTC ).

Durante la degenza in Rianimazione il paziente è andato incontro a progressiva risoluzione del coma e costante stabilizzazione delle concentrazioni ematiche di ammonio e dopo 5 giorni è stato trasferito in reparto di Pediatria in condizioni generali discrete, buono stato di nutrizione, parametri fisiologici nella norma, sveglia con tendenza all'addormentamento, lamentoso e con favella rallentata ma responsivo alle domande. Durante il ricovero è stata continuata la terapia, e sono state eseguite visita oftalmologica, dietetica e neuropsichiatrica infantile che hanno evidenziato un progressivo miglioramento delle condizioni generali e neuropsicomotorie e i valori dell'ammoniemia si sono mantenuti nel range per l'età ( < 80  $\mu\text{g/dl}$  ) con buon compenso metabolico.

Il paziente è stato dimesso dopo 20 giorni con diagnosi di deficit di ornitina transcarbamilasi (OTC) con terapia a domicilio con dieta ipoproteica (25-30 g di proteine naturali/die), sodio fenilbutirrato (Ammonaps 4,5 g/die), Bioarginina (4,98 g/die) e sono stati dati ai familiari consigli terapeutici da attuarsi in caso di scompenso metabolico.

È stato programmato un follow-up periodico presso il Centro di Malattie Metaboliche della Clinica Pediatrica dell'Università di Torino con rivalutazione metabolica, neurologica, dietetica e oftalmologica.

È stata inoltre eseguita l'analisi genetica mediante PCR del gene OTC del paziente e di tutto il nucleo familiare della linea materna che ha evidenziato una mutazione puntiforme missense c.264 A>T (esone 3) che, come descritto in letteratura si associa a un'attività residua enzimatica del 3% determinando un fenotipo late onset e quadri clinici eterogenei.

## Risultati

Il deficit di OTC, così come gli altri difetti del ciclo dell'urea è responsabile di una condizione di iperammoniemia causata dall'impossibilità di eliminare le scorie azotate per il blocco metabolico. Elevate concentrazioni di ammonio nel plasma sono tossiche e un ritardo nella diagnosi e nel trattamento dell'iperammoniemia possono esitare in gravi e irreversibili danni neurologici e potenzialmente portare a morte; per questo motivo è considerata un'emergenza medica.

Nell'iter diagnostico di un paziente in coma (grave e persistente forma di compromissione dello stato di coscienza in cui il paziente non risponde agli stimoli e non ha coscienza di sé e dell'ambiente circostante) è molto importante il dosaggio in urgenza dell'ammoniemia (mediante prelievo venoso o arterioso, senza laccio, conservato in ghiaccio o analizzato immediatamente) che dovrebbe essere eseguito in tutti i pazienti critici, adulti e bambini, senza una diagnosi precisa; la durata del coma e i livelli di ammoniemia infatti sono inversamente proporzionali all'outcome del paziente.

L'iperammoniemia è una condizione patologica caratterizzata da un'elevata concentrazione di ammonio nel plasma (v.n.  $\text{NH}_3$  nel plasma: 50-80  $\mu\text{mol/l}$  dopo il periodo neonatale; < 110  $\mu\text{mol/l}$  nel neonato). Essa può dipendere da un'intossicazione endogena, dovuta all'incapacità da parte dell'organismo di eliminare le scorie azotate, a causa di deficit enzimatici congeniti, come avviene nei difetti del ciclo dell'urea o nelle organicoacidurie (in questo caso la concentrazione di ammonio è > 200  $\mu\text{mol/L}$  nel neonato e > 100  $\mu\text{mol/L}$  nell'adulto) oppure dall'esposizione a farmaci e tossine esogene (salicilati, valproato), o ancora da cause varie (insufficienza epatica, persistenza del dotto venoso, attività muscolare intensa durante attacchi epilettici generalizzati o sindrome da distress respiratorio neonatale).

Nel caso si sospetti una malattia metabolica è fondamentale eseguire alcune indagini in urgenza per diagnosticare e trattare rapidamente la patologia: rivalutazione dell'ammonio plasmatico, EGA

con Ph ematico, esami ematochimici (urea, elettroliti, glucosio, creatinina), funzionalità epatica e coagulazione, amminoacidi plasmatici (Gln, Ala, Citrullina, Arginina), amminoacidi, acidi organici, acido orotico urinari, acil carnitine, neuroimaging cerebrale e EEG. La conferma diagnostica richiede la valutazione dell'attività enzimatica su specifici tessuti e la analisi genetica.

Il trattamento dell'iperammoniemia deve essere tempestivo e deve essere instaurato anche in assenza, o in attesa di una diagnosi eziologica per evitare gravi e irreversibili danni neurologici o la morte del paziente. Esso prevede:

- la somministrazione di glucosata al 10% per bloccare il catabolismo e riattivare l'anabolismo proteico,
- l'eliminazione urinaria di ammonio mediante vie metaboliche alternative con l'utilizzo di chelanti quali Na Benzoato e Fenilbutirrato,
- la dialisi (emodialisi o emodiafiltrazione) se l'ammoniemia è > 500  $\mu\text{mol/l}$  o non viene controllata da terapia medica,
- la sostituzione dei metaboliti deficitari quali Arginina e Citrullina,
- la dietoterapia con interruzione dell'apporto di proteine e amminoacidi.

La terapia enzimatica cellulare mediante trapianto di fegato, epatociti maturi e cellule staminali di derivazione epatica rappresenta una valida alternativa, soprattutto nei pazienti con malattia metabolica grave e refrattari a terapia medica.

## Discussione

Questo caso illustra che i difetti del ciclo dell'urea e in particolare il deficit di OTC nel fenotipo late-onset possono manifestarsi a qualunque età. È fondamentale dunque, in tutti i pazienti che si presentano con sintomi neurologici inspiegati, confusione, turbe del comportamento o alterato livello di coscienza fino al coma, senza una diagnosi precisa porre il sospetto di tali patologie e dosare in urgenza l'ammoniemia.

In caso di iperammoniemia > 200  $\mu\text{mol/l}$  nei neonati e lattanti e > 100  $\mu\text{mol/l}$  nel bambino più grande e nell'adulto deve essere sempre sospettata una malattia metabolica.

Infine la terapia dell'iperammoniemia deve essere iniziata immediatamente, anche in assenza di una diagnosi eziologica precisa; un ritardo nella diagnosi e nel trattamento infatti potrebbero determinare gravi e irreversibili danni neurologici e portare a morte il paziente.

## Bibliografia

Walker V. Ammonia toxicity and its prevention in inherited defects of the urea cycle. *Diab Obes Metab* 2009 1(9):823-385

Tuchman M, Lee B, Lichter-Konecki U, Summar ML, Yudkoff

M, Cederbaum SD, et al. Cross-sectional multicenter study of patients with urea cycle disorders in the United States. *Mol Genet Metab* (2008) 94:397-402

Arranz JA, Riudor E, Marco-Marín C, Rubio V Estimation of the total number of disease-causing mutations in ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency Value of the OTC structure in predicting a mutation pathogenic potential. *J Inherit Metab Dis* ( 2007 ) 30(2):217–226

Brusilow S, Horwich A.L, Urea cycle enzymes, in: Scriver A.R, Beaudet A.L, Sly W.S, Valle E, *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, McGraw-Hill, New York, 2001, pp. 1909–1963.

Fernandes J , Saudubray J , van den Berghe G , Walter J. H. *Inborn Metabolic Diseases , Diagnosis and Treatment* Springer 2006 ; 20: 264-272

Auron A , Brophy P.D. Hyperammonemia in review: pathophysiology, diagnosis, and treatment *Pediatr Nephrol* ( 2012 ) 27:207-222

Summar ML, Urea Cycle Disorders Overview. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, eds. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2003 Apr 29 [updated 2005 Aug 11]>

Batshaw ML, Msall M, Beaudet AL, Trojak J. Risk of illness in heterozygotes for ornithine transcarbamylase deficiency. *J Pediatr* 1986;108:236–41.

Finkelstein JE, Hauser ER, Leonard CO, Brusilow SW. Late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in male patients. *J Pediatr* 1990;117:897–902.