

*Е.А. Зглюй*

**МУТАЦИИ ГЕНА ОТК И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ  
ГИПЕРАММОНИЕМИИ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)**

*Научный руководитель: канд. мед. наук Е.А. Хотько*

*Кафедра биологической химии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*K.A. Zglui*

**MUTATIONS OF THE OTC GENE AND THEIR IMPACT ON THE  
DEVELOPMENT OF HYPERAMMONIEMIA (CLINICAL CASE)**

*Tutor: PhD, associate professor E.A. Khotko*

*Department of Biological Chemistry*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** В данной статье рассмотрено влияние мутаций гена орнитинкарбамоилтрансферазы (ОТК) на развитие нарушений работы орнитинового цикла мочевины. Изучен клинический случай с летальным исходом.

**Ключевые слова:** ген ОТК, мутации, гипераммониемия.

**Resume.** This article examines the effect of ornithine carbamoyltransferase (OTC) gene mutations on the development of disorders of the ornithine urea cycle. A clinical case with a fatal outcome is studied.

**Keywords:** OTC gene, mutations, hyperammonemia.

**Актуальность.** Структуры гена и белка орнитинкарбамоилтрансферазы (ОТК) хорошо изучены у многих видов живых организмов от бактерий до человека. Человеческий ген ОТК был выделен и охарактеризован более 30 лет назад. Однако недавние открытия о нарушении регуляции ОТК при патологических состояниях и вторичных модификациях белков вызвали новый интерес, так как большинство выявленных в настоящее время мутаций гена ОТК влияет на работу печени, в частности на цикл мочевины [6].

**Цель:** на примере клинического случая изучить и систематизировать данные о патогенезе инфантильной формы гипераммониемии, возникшей в результате мутации гена орнитинкарбамоилтрансферазы.

**Задачи:**

1. Изучить материалы о мутациях гена ОТК.
2. Рассмотреть возможные формы клинических проявлений дефицита ОТК.
3. Описать метаболические пути и механизмы, лежащие в основе изменений биохимических процессов, у пациента с полиморфизмом гена ОТК.
4. Изучить клинический случай развития гипераммониемии в результате мутации гена ОТК.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили публикации поисковых баз данных PubMed, Elibrary, Medline, Free Medical Journals, а также данные медицинской карты стационарного пациента, посмертного эпикриза и патологоанатомического заключения. Изучение клинических проявлений заболевания проведено с использованием анамнестического метода. Для определения

мутации выполнено полное секвенирование генома. Уровень аммиака в крови определяли спектрофотометрически.

**Результаты и их обсуждение.** Человеческий ген ОТК был выделен и охарактеризован более 30 лет назад. Он расположен на коротком плече X-хромосомы X, GRCh38.p14. Ген состоит из 10 кодирующих экзонов и девяти интронов. Третий экзон кодирует центр связывания карбамилфосфата, а девятый экзон – сайт связывания с орнитином. ОТК синтезируется в цитоплазме в качестве предшественника. С периодом полураспада всего 1-2 мин этот пре-белок быстро направляется в митохондрии, где белок созревает и собирается в гомотримеры. Одна субъединица имеет двудольную структуру с двумя отдельными структурными доменами, в основном состоящими из центрального  $\beta$ -слоя с  $\alpha$ -спиралями с обеих сторон. Каждая субъединица содержит активный центр, который выходит на вогнутую поверхность [6].

На сегодняшний день выявлено 538 мутаций гена, кодирующего ОТК [6], из которых достаточно хорошо изучены и описаны только 417. Наследование этих мутаций рецессивное. 44 из них не приводят к нарушению синтеза ОТК [4]. При этом у гетерозиготных носителей симптомы заболеваний могут проявляться в более позднем возрасте и в более легкой форме или вообще протекать бессимптомно [6].

Важно отметить, что наблюдается большая фенотипическая гетерогенность проявлений мутаций гена ОТК даже у членов одной семьи. Она может быть связана как с генотипическими модификациями, так и с факторами окружающей среды, влияние которых на данный момент плохо изучено [4].

Клинически дефицит ОТК может проявляться в неонатальной, инфантильной и юношеской формах. Неонатальная форма проявляется уже через 24-72 часа после рождения. Наблюдают рвота и трудности при вскармливании. Постепенно развиваются диспноэ, гипотермия и судороги [1]. Полный дефицит ОТК приводит к гипераммониемической коме, задержке роста, отеку мозга и смерти [6]. Инфантильная форма проявляется в первый год жизни при введении высокобелкового прикорма. У ребенка замечают умственную отсталость и задержку физического развития. Юношеская форма проявляется в подростковом возрасте и включает все перечисленные выше симптомы [1].

Заболевания, связанные с нарушением синтеза ОТК, диагностируют по анализу мочи на наличие оротовой кислоты, а также по хроматографии аминокислот в плазме. Основным методом диагностики – секвенирование ДНК [6]. Одна из малоизученных на данный момент мутаций – миссенс-мутация rs6783833. Это однонуклеотидная замена аденина на гуанин (с.716A>G), которая приводит к замене глутаминовой кислоты на глицин в 239 положении [5]. Рассмотрим течение клинического случая у ребенка с такой мутацией. Мальчик X (1 год и 1 месяц) поступил в приемное отделение УЗ «Минская областная детская клиническая больница» с многократной рвотой, беспокойством и плачем. Анамнез без особенностей: ребенок от первой беременности, первых родов, масса при рождении – 3440 г, физическое и нервно-психическое развитие соответствовало возрасту. Лабораторные данные: повышение активности трансаминаз – ферментов, катализирующих перенос аминокрупп от аминокислот на кетокислоты без образования свободного аммиака (AsAT – 121 Ед/л,

АлАТ – 165 Ед/л), и щелочной фосфатазы (до 500 Ед/л); кетонурия при отсутствии других изменений в моче.

Инструментальные данные: незначительная гепатомегалия по данным УЗИ, структурных изменений головного мозга не выявлено. После исключения острой хирургической патологии и нейроинфекции диагностирована вирусно-бактериальная инфекция (выделен вирус парагриппа 3 типа). Несмотря на проведенную терапию (инфузионные растворы, антибиотики), в крови сохранялась повышенная активность трансаминаз.

На 22-ые сутки госпитализации отмечено ухудшение состояния: признаки дыхательного алкалоза (рН 7,419, р<sub>а</sub>O<sub>2</sub> 106,6 мм.рт.ст, рСО<sub>2</sub> 30,1мм.рт.ст, НСО<sub>3</sub> 19,5ммоль/л, АВЕ -5,0ммоль/л, повышение лактата до 3,41ммоль/л). Накопление кислотных эквивалентов инициирует каскад компенсаторных реакций: метаболический ацидоз приводит к активации бикарбонатной буферной системы, что сопровождается усиленным образованием углекислого газа и последующей гипервентиляцией (снижение рСО<sub>2</sub>). Гипокапния приводит к церебральной вазоконстрикции. Наблюдаемые метаболические изменения усугубляют неврологическую симптоматику.

В последующие сутки развилось угнетение сознания с переходом в сопор, зафиксирован эпизод генерализованных судорог, потребовавший перевода пациента на ИВЛ. Дальнейшее обследование исключило аутоиммунную природу заболевания. В динамике отмечалось прогрессирование неврологической симптоматики: нарастание внутричерепной гипертензии, отека мозга и гипернатриемии.

Как нам известно, в случае наличия мутации гена ОТК печени может развиваться дефицит данного фермента. Нарушается цикл мочевины – конечный путь катаболизма аминокислот, который обеспечивает детоксикацию аммиака, – что приводит к развитию гипераммониемии. В норме на первых стадиях гипераммониемии токсичность аммиака (высокотоксичного соединения, которое не может быть выведено из организма в исходном состоянии и избыточность которого приводит к изменению нейротрансмиттерной системы мозга [3]) может смягчить у-аминомасляная кислота (ГАМК) [10], которая является тормозным нейромедиатором, необходимым для нормальной работы центральной нервной системы [7]. Связываясь с рецепторами ЛЗИК А типа ГАМК инициирует открытие ионных каналов хлора. Хлор поступает внутрь. Наступает гиперполяризация и снижается возбудимость нейронов (это связывают с тревожностью и паникой). При связывании ГАМК с 7-ТМС рецепторами В типа – гетеродимеров из субъединиц 1 и 2 (1 связана с лигандом, 2 – с G-белком) [9], снижается высвобождение норадреналина и инактивируются кальциевые-ПЗИК. Происходит ингибирование аденилатциклазы (чем объясняются мышечные спазмы, боль, развитие шизофрении и неврологические расстройства). Связывание с рецепторами С типа необходимо для обработки и передачи сенсорных сигналов в сетчатке, обонятельных луковицах и спинном мозге [7].

Несмотря на то, что под влиянием ГАМК активируются энергетические процессы мозга, повышается дыхательная активность тканей, улучшается утилизация мозгом глюкозы, улучшается кровоснабжение, его недостаточно для полной детоксикации аммиака, наблюдается дальнейшая гипераммониемия. Накопленный

аммиак стимулирует гликолиз в астроцитах и ингибирует окисление пирувата, что приводит к увеличению продукции лактата в мозге [8], а внутриклеточное его накопление приводит к усиленной экспрессии аквапоринов 4 типа. Результат – повышение внутричерепного давления и отек головного мозга [2]. Накапливается и сам глутамат, взаимодействие которого с ионотропными рецепторами AMPA, передающими быстрые возбуждающие сигналы в синапсах нервной системы позвоночных, приводит к поступлению в клетку ионов  $\text{Na}^+$ . Ионы  $\text{Na}^+$  образуют положительный заряд на внутренней мембране митохондрии, что приводит к активации NMDA-рецепторов (метаботропные и ионотропные), селективно связывающих N-метил-D-аспартат. Когда глутамат связывается с ионотропным NMDA-рецептором заряд на внутренней мембране становится положительным, ион  $\text{Mg}^{2+}$  удаляется (активация R), в клетку начинают поступать ионы  $\text{Na}^+$ . Когда глутамат связывается с метаботропным NMDA-рецептором происходит активация Gq-белка. Дальнейшая активация фосфолипазы C приводит к образованию ДАГ и активации протеинкиназы C и дальнейшему фосфорилированию Ca-каналов. ИТФ стимулирует высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из кальциосом, он активирует протеинкиназы и каспазу, которые приводят к некрозу и апоптозу клеток.

Хроническая гипераммониемия приводит к ухудшению регуляции рецепторов глутамата, что приводит к ухудшению когнитивных функций, а также может привести к развитию судорог. Описанные выше процессы наблюдались и в рассматриваемом клиническом случае.

Когда состояние пациента стало крайне тяжелым, отмечалось угнетение сознания до уровня глубокой комы, развилась сердечная недостаточность, острое почечное повреждение, ДВС-синдром, учитывая отсутствие эффекта от проводимой терапии, исключение инфекционного и аутоиммунного генеза патологического процесса, у ребенка было заподозрено врожденное нарушение обмена веществ, приведшее к развитию метаболической комы. На 6-ые сутки пребывания в реанимационном отделении ребенок был проконсультирован врачом-генетиком, была набрана кровь для определения возможного нарушения обмена веществ. На 13-ые сутки у пациента было диагностировано врожденное нарушение цикла мочевины, связанное с дефицитом ОТК, выявленное методом tandemной масс-спектрометрии. Была набрана кровь для определения уровня аммиака, который составил 1600 мкмоль/л и в более чем в 20 раз превышал допустимую норму - 70 мкмоль/л. В последующие сутки состояние мальчика оставалось крайне тяжелым, нестабильным, прогрессировали явления синдрома полиорганной недостаточности, который и стал причиной летального исхода.

Заключительный клинический диагноз: «Нарушение обмена веществ – цикл мочевины, недостаточность ОТК. Гипераммониемическая кома. Сепсис. СПОН (синдром полиорганной недостаточности)». В дальнейшем врожденный дефицит ОТК был подтвержден молекулярно-генетическим анализом (полное секвенирование генома), выявившим мутацию с.716A>G в гене ОТК.

#### **Выводы:**

1. Лишь 44 из 538 выявленных мутаций гена, кодирующего орнитинтранскарбамилазу (ОТК), не приводят к нарушению ее синтеза. Многие

мутации пока недостаточно исследованы. Одна из малоизученных мутаций – миссенс-мутация rs6783833 – однонуклеотидная замена аденина на гуанин (с.716А>G).

2. Выявлено три формы клинических проявлений дефицита ОТК: неонатальная, инфантильная и юношеская. Их возможные последствия: постепенное развитие диспноэ, гипотермия, задержка роста, судороги, а также гипераммониемическая кома, отек мозга и смерть.

3. Рассмотренный клинический случай подтверждает необходимость проведения генотипирования родителей с целью своевременного выявления мутаций гена ОТК и дальнейших исследований по изучению влияния различных мутаций гена ОТК на работу этого фермента.

### Литература

1. Гамисония, А.М. Дефицит орнитинтранскарбамиллазы: [Электронный ресурс] // ГЕНОКАРТА Генетическая энциклопедия. 2019. – Режим доступа: [https://www.genokarta.ru/disease/Deficit\\_ornitintranskarbamilazy](https://www.genokarta.ru/disease/Deficit_ornitintranskarbamilazy) – Дата доступа: 02.03.2025.
2. Cerqueira Cesar Machado, M. Hyperammonemia due to urea cycle disorders: a potentially fatal condition in the intensive care setting / M. Cerqueira Cesar Machado, etc. // Journal of Intensive Care, 2014. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4407289/#Sec1> – Date of access: 09.03.2025.
3. Gropman, A.L. Neurological implications of urea cycle disorders / A.L. Gropman, etc. // Author Manuscript, 2007 Nov 23; 30(6): 865-879. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3758693/#S2> – Date of access: 12.02.2025.
4. Ljubica Caldovic. Genotype–Phenotype Correlations in Ornithine Transcarbamylase Deficiency: A Mutation Update / Ljubica Caldovic, etc. // Author manuscript, 2016. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4565140/> – Date of access: 25.12.2024.
5. Magesh, R. Computational pipeline to identify and characterize functional mutations in ornithine transcarbamylase deficiency / R. Magesh, C. George Priya Doss // 3 Biotech (2014) 4: 621-634]. – Mode of access: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-014-0216-y> – Date of access: 07.03.2025.
6. Morgane Couchet. Ornithine Transcarbamylase – From Structure to Metabolism: An Update / Morgane Couchet, etc. // Frontiers in Physiology, 2021 Oct 1; 12:748249. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8517447/> – Date of access: 07.12.2024.
7. Qingli Zhang. Insights and progress on the biosynthesis, metabolism, and physiological functions of gamma-aminobutyric acid (GABA): a review / Qingli Zhang, etc. // PeerJ, 2024 Dec 16. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11657192/> – Date of access: 05.03.2025.
8. Schmitt Ribas, G. Hyperammonemia in Inherited Metabolic Diseases / G.Schmitt Ribas, etc. // Cellular and Molecular Neurobiology (2022), P. 2593-2609. – Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11421644/#Sec16> – Date of access: 09.03.2025.
9. Xunjia Qian. Current status of GABA receptor subtypes in analgesia / Xunjia Qian, etc. // Biomedicine & Pharmacotherapy, №168, 2023. – Mode of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332223015986?via%3Dihub> – Date of access: 07.03.2025.
10. Yunshi Liang. Effects of ammonia toxicity on the histopathology, detoxification, oxidative stress, and immune response of the cuttlefish Sepia pharaonic and the mitigation of  $\gamma$ -aminobutyric acid / Yunshi Liang, etc. // Ecotoxicology and Environmental Safety 232 (2022). – Mode of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651322000963?via%3Dihub#sec0090> – Date of access: 03.03.2025.