

# GENETICKÝ POLYMORFISMUS HISTAMIN N-METYLTRANSFERÁZY VE VZTAHU K BEHAVIORÁLNÍ REAKCI NA ADITIVA V POTRAVĚ

souborný článek

Ivana Drtílková

Psychiatrická klinika FN Brno

**Kontaktní adresa:**

prof. MUDr. Ivana Drtílková, CSc.  
Psychiatrická klinika FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: idrtilkova@fnbrno.cz

## SOUHRN

**Drtílková I. Genetický polymorfismus histamin N-metyltransferázy ve vztahu k behaviorální reakci na aditiva v potravě**

Nebylo prokázáno, že umělé přísady stravy jsou příčinou ADHD, avšak některé studie ukazují, že určitá umělá barviva a konzervanty v potravě mohou být příčinou zhoršení hyperaktivního chování u některých dětí. Stevenson et al.<sup>12</sup> sledovali ve dvojitě slepé, zkřížené studii s placebem účinek dvou směsí umělých barviv a benzoátu sodného podávaných v ovocném nápoji 297 dětem ze vzorku obecné populace. Nežádoucí účinek přísad stravy na ADHD symptomy byl ovlivňován degradací histaminu v důsledku genetického polymorfismu HNMT T939C a Thr105Ile. Varianty genů ovlivňující aktivitu histaminu mohou vysvětlit inkonzistentní výsledky mezi předchozími studiemi.

**Klíčová slova:** ADHD, umělé přísady stravy, genetika, histamin.

## SUMMARY

**Drtílková I. Genetic polymorphism of histamine N-methyltransferase in relation to the behavioral response to additives in food**

There's no evidence that food additives cause attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), but some studies show that certain food colorings and preservatives may cause or worsen hyperactive behavior in some children. Stevenson et al.<sup>12</sup> studied in a double-blind, placebo controlled crossover trial that involved two food color additives and sodium benzoate mixtures in fruit drink administered to a general community sample of 297 children. The adverse effect of food additives on ADHD symptoms was moderated by histamine degradation gene polymorphisms of histamine N-methyltransferase (HNMT T939C and Thr105Ile). Variations of genes influencing the action of histamine may explain the inconsistency of results in previous studies.

**Key words:** ADHD, additives, genetics, histamine.

## ÚVOD

Od 80. let 20. století, kdy popsal dr. Benjamin Feingold<sup>1</sup> zmírnění hyperaktivního chování u dětí po vyloučení syntetických barviv a přírodních salicylátů ze stravy, je diskutován možný vztah aditiv v potravě k ADHD a v klinických studiích ověřován efekt různých dietních omezení. V pěti zemích tří kontinentů proběhly kontrolované studie srovnávající efekt omezující diety s placebem, které však trpěly nedostatečnou selekcí při zařazování vhodných subjektů a v praxi často selhaly při snaze omezit příliš široké spektrum jídla. Na rozdíl od výrazného efektu, který pozoroval Feingold (zlepšení > 50 %), efekt omezující diety v těchto studiích kolísal mezi 5 a 15 %, u malých, tříletých dětí kolem 30 %.

Dosud je některými praktiky doporučována oligoantigenní dieta (Few Foods Diet), zejména pro předškolní děti s ADHD, s projevy iritability, somatickými symptomy, poruchami spánku a příznaky atopie. Ve Spojených státech Feingoldova společnost (Feingold Association of United States) doporučuje pro hyperaktivní děti eliminační dietu, při které jsou ze stravy vyloučena následující aditiva:

- *barviva*: např. tartrazin, žluť SY, košenila, azorubin, ponceau 4R, amarant, červeň allura AC, brilantní modř FCF, brilantní černá BN, hněd FK, hněd HT,
- *ochucovací látky*: vanillin,
- *antioxidanty*: butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), terciární butylhydrochinon (TBHQ),
- *konzervační látky*: benzoan sodný, L-glutaman sodný, siřičitany, dusitany a dusičnany,
- *náhradní sladidla*: aspartam.

Vedle eliminačních diet jsou doporučovány také různé suplementační diety, s cílem teoreticky podpořit neurogenезi a maturaci CNS nebo nahradit nedostatek některých neurotransmiterů a prvků, které jsou (podle některých studií), u dětí s ADHD deficitní. Jedná se většinou o různé doplňky stravy:

- *aminokyseliny* – prekurzory katecholaminů, serotoninu,
- *esenciální mastné kyseliny* – maturace a činnost CNS, membrány neuronů...
- *glykonutriční suplementace* – potřebná pro glykokonjugaci,
- *L-carnitin* – promotor EFA metabolismu,
- *dimethylamino-ethanol (DMAE)* – prekurzor acetylcholinu,
- *železo* – kofaktor biotransformace katecholaminů,
- *zinek* – kofaktor řady enzymů,
- *magnesium*,
- *vitaminy*.

Je nutné zdůraznit, že žádná z eliminačních nebo suplementačních diet není oficiálně schválena odbornými psychiatrickými společnostmi jako léčba ADHD založená na důkazech a není obsažena v doporučených postupech léčby.

Vztah hyperaktivity a aditiv nepotvrdili Kavale a Forness<sup>2</sup> v metaanalýze 23 starších studií. V roce 1982 Americký národní ústav zdraví (American National Institute of Health – NIH) vyhodnotil práce v této oblasti tak, že omezení ve složení stravy pomáhá jen malému procentu

hyperaktivních dětí.<sup>3</sup> K nejasnému vztahu mezi hyperaktivitou a cizorodými složkami potravy se vrátily i některé studie v poslední dekádě.

V roce 2004 Shab et al.<sup>4</sup> v metaanalýze dvojitě slepých studií dospěli ke zjištění, že u jedinců, kteří ve zkříženém pokusu nedostávali stravu s přísadkami umělých barviv, došlo ke zlepšení chování, které bylo v průměru srovnatelné s 30–50% efektem medikamentózní léčby. Příznivý efekt byl však patrný nejen u dětí s ADHD, ale také u dětí „zdravých“.

V další, dvojitě slepé studii<sup>5</sup> byly výsledky velmi inkonzistentní, některé děti reagovaly zhoršeným chováním, jiné sporně, na jiné neměly tyto látky žádný vliv. Změny v chování v závislosti na dietě pozorovali pouze rodiče, nebyly však potvrzeny klinickým vyšetřením.

Zajímavé výsledky přinesly dvě nedávné navazující, dvojitě slepé kontrolované studie s placebem ze Southamptonu. V první studii<sup>6</sup> v roce 2007 byla hodnocena pouze klinická odezva po zátěži aditiv, ve druhé studii v roce 2010<sup>11</sup> byla korelována klinická reakce s výsledky molekulárně genetické analýzy souboru. Zejména výsledky druhé studie přinesly nové podněty a témata k diskusi.

## METODA A VÝSLEDKY

### 1. KLINICKÉ STUDIE

V roce 2007 Mc Cann et al.<sup>6</sup> v dvojitě slepé, placebem kontrolované studii zkoumali reakci 260 dětí ze Southamptonu, které dostávaly zkříženě dva druhy nápojů s aditivou. V první skupině bylo 153 dětí ve věku 3–4 let a ve druhé 144 dětí ve věku 8–9 let. Zařazení do souboru nebylo podmíněno přítomností symptomů ADHD.

Po týdnu s normální stravou byla cílená aditiva a benzoát vyloučeny ze stravy. Následovala 6týdenní perioda, ve které byl sledován výskyt nebo ústup symptomů hyperaktivity při aplikaci tří druhů nápojů (směs A, směs B a směs s placebem, ve dvojitě slepém uspořádání. Směs A obsahovala: žluť SY (E110), tartrazin (E102), azorubin (E122), košenilovou červeň A (E124). Směs B obsahovala: žluť SY (E110), chinolinovou žluť (E104), azorubin (E122), červeň alluru (E129). Obě směsi navíc obsahovaly konzervační látku benzoát sodný, který byl použit i v předchozích studiích.

Symptomy hyperaktivity byly sledovány u mladších dětí pomocí škály ADHD RA-IV<sup>7</sup> (verze pro učitele) a škálou Abbreviated Weiss-Verry-Petters<sup>8</sup> hodnocenou rodiči. Třetí škálou byla Classroom Observation Code<sup>9</sup> hodnotící chování. Každé dítě bylo hodnoceno 24 minut každý týden. U starších dětí byl mimo uvedené 3 škály použit také Connors Continuous Performance Test II<sup>10</sup> cílený na hodnocení pozornosti.

Na zátěž aditiv reagovaly pouze některé děti, bez ohledu na to, zda měly před experimentem diagnózu ADHD. Směs A ve srovnání s placebem provokovala nežádoucí projevy v chování u 3letých dětí (effect size 0,20 [95% CI 0,01–0,39], p = 0,044), tento vztah však nebyl prokázán u směsi B. U 8/9letých dětí byl patrný signifikantní vliv na chování jak u směsi A (0,12 [0,02–0,23], p = 0,023), tak u směsi B (0,17 [0,07–0,28], p = 0,001). Autoři z vý-

sledků vyvodili závěr, že umělá barviva a konzervanty (sodium benzoát) ve stravě zvyšují úroveň hyperaktivity u dětí v celkové populaci, nikoli jen u jedinců s ADHD, v reakci na aditiva jsou však velké interindividuální rozdíly.

## METODA A VÝSLEDKY 2., MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ STUDIE

Rozdíl v reakci na aditiva v potravě, které byly zjištěny ve studii v Southamptonu, se pokusili vysvětlit autoři recentní studie<sup>11</sup> v roce 2010, kteří podrobili genetické analýze původně sledovaný soubor jedinců. Jejich cílem bylo potvrdit hypotézu, že variabilní reakce na aditiva může souviset s geneticky podmíněnou alergickou dispozicí, při které imunitní systém začne produkovat specifické látky na potlačení alergenů a uvolňovat histamin. Předpokládali, že genetický polymorfismus, který ovlivňuje degradaci histaminu, může u některých jedinců způsobit zvýšenou senzitivitu na některé cizorodé látky v potravě a vzhledem k zastoupení a aktivitě histaminových receptorů v mozku je možné očekávat i behaviorální účinky.

Těla histaminergních neuronů jsou uložena v ncl. tuberomammillaris hypotalamu a jejich axony inervují téměř všechny části CNS. Regulují obecné aktivity mozku (úroveň stavu bdělosti či energetický metabolismus). Histaminové H<sub>3</sub>-receptory jsou přítomny převážně v mozku, působí v CNS jako presynaptické receptory, inhibují výlev a syntézu histaminu a také mohou účinkovat jako heteroreceptory, kontrolující výlev dalších neurotransmiterů.

Efektivně fungující histaminový systém umožňuje účinné a včasné vyplavení histaminu z organismu. Katabolismus histaminu v mozku probíhá téměř výhradně přes jeho metylaci histamin N-metyltransferázou (HNMT). Pokud však gen HNMT kóduje protein, který je méně výkonný (polymorfismus HNMT), je narušena clearance a degradace histaminu, což může být příčinou zvýšené vulnerability k různým alergickým reakcím.<sup>12</sup>

Ve studii byly zkoumány dvě skupiny genů, ty, které ovlivňují neurotransmise katecholaminů: dopaminový přenašeč (DAT1), dopaminový receptor D<sub>4</sub> (DRD<sub>4</sub>), adrenergní receptory (ADRA1, ADRA2) a katechol-O-metyltransferáza (COMT). Polymorfismy těchto genů nejčastěji prokázaly v molekulárně-genetických studiích souvislost s ADHD (COMT Val108Met, ADRA2A C1291G, DRD<sub>4</sub> rs740373 a DAT1). Mimo to, s cílem ověřit histaminovou hypotézu, byly také analyzovány geny pro histamin N-metyltransferázu (HNMT Thr105Ile, HNMT T939C). Jednalo se o jednobodové polymorfismy (single nucleotide polymorphism – SNP), při kterých došlo k záměně threoninu za isoleucin v poloze 105 v proteinové sekvenci histamin N-metyltransferázy (HNMT Thr105Ile) a k záměně tyminu za cytosin v poloze 939 sekvence DNA genu pro histamin N-metyltransferázu (HNMT T939C).

Výsledky ukázaly, že zvýšení hyperaktivity po zátěži jen minimálně souviselo s polymorfismy „katecholaminergních“ genů, jejichž určité varianty jsou považovány za specifický, rizikový faktor v etiopatogenezi ADHD. Pouze ve skupině starších dětí 8/9 let byl nalezen vztah ( $p = 0,05$ )

k výskytu krátké formy (S) alely DAT1. V obou věkových skupinách nebyl prokázán vztah mezi reakcí na zátěž a genotypy COMT Val108Met, ADRA2A C1291G a DRD<sub>4</sub> rs740373.

Podstatně významnější vztah byl prokázán u obou věkových skupin ke genetickým polymorfismům histamin N-metyltransferázy (HNMT Thr105Ile, HNMT T939C). U tříletých dětí směsi A i B zvýšily hyperaktivitu u dětí s absencí alely T HNMT Thr105Ile ( $p = 0,04$ ) i s absencí alely C HNMT T939C ( $p = 0,06$ ). Ve skupině starších dětí směs A zvýšila hyperaktivitu u jedinců s absencí alely C HNMT T939C ( $p = 0,02$ ) a směs B zvýšila hyperaktivitu u jedinců s absencí alely T HNMT Thr105Ile ( $p = 0,05$ ) i u jedinců s absencí alely C HNMT T939C ( $p = 0,03$ ). Zvýšení hyperaktivity nebylo selektivně vázáno na jedince s ADHD, bylo pozorováno i u dětí „zdravých“.

## DISKUSE

Výsledky Stevensonovy studie ukazují na možný vztah mezi reakcí na aditiva v potravě a některými polymorfismy histaminových genů, konkrétně u jedinců s absencí alely T a C genů histamin N-metyltransferázy. Tento genetický polymorfismus, který negativně ovlivňuje degradaci histaminu, pravděpodobně může u některých jedinců způsobit zvýšenou senzitivitu na přítomnost určitých cizorodých látek v potravě, která se může projevit v behaviorální oblasti jako zvýšení hyperaktivity.

Také jiní autoři připomínají, že podle některých výzkumů se u dětí s alergickými projevy (např. astmatem) vyskytují častěji různé behaviorální problémy, včetně symptomů ADHD.<sup>13,14</sup> V roce 2010 vstoupilo v platnost nařízení Evropské komise, které potravinářům zakazuje používat šest umělých přísad. Konkrétně jde o látky E102, E104, E110, E122, E124 a E129; pokud tato barviva (tartrazin, chinolinová žluť, žluť SY, azorubin, košenilová červeň, červeň allura) výrobce použije, musí na obal umístit upozornění, že mohou nepříznivě ovlivňovat činnost a pozornost dětí.

Rovněž v preklinických studiích bylo pozorováno, že histaminový systém je úzce spojen s kognitivními procesy, protože aktivita centrálních histaminových H<sub>3</sub> receptorů u myši inhibovala proces učení, zvyšovala hyperaktivitu a podporovala uvolňování dopaminu ve frontálním kortexu.<sup>15</sup>

V preklinických studiích bylo také zjištěno, že metylfenidát a atomoxetin, které jsou účinnými léky u ADHD, ovlivňující především dopaminergní a noradrenergní systém, částečně zasahují také do metabolismu histaminu. Liu et al. pozorovali u krys s genetickým modelem ADHD, že atomoxetin zvýšil extracelulární hladiny histaminu v prefrontálním kortexu, což je region významně zapojený v patofyziologii ADHD.<sup>16</sup> Atomoxetin významně zlepšil v experimentu kognitivní schopnosti (učení a paměť) u pokusných zvířat. V další studii<sup>17</sup> bylo pozorováno, že metylfenidát i atomoxetin způsobily u krys výrazné zvýšení extracelulárních hladin histaminu, který má významnou roli v modulaci učení, paměti a pozornosti. I když je zlepšení těchto symptomů při léčbě ADHD téměř výhradně dáváno do souvislosti s ovlivněním katecholaminů,

autoři se domnívají, že uvolnění histaminu se může částečně podílet na efektu těchto preparátů.

Gemkov<sup>18</sup> předpokládá, že v budoucnosti nelze vyloučit potenciální využití antagonistů histaminových H3 receptorů v léčbě některých poruch, včetně ADHD. Biofarmaceutická společnost Athersys (Cleveland ve státě Ohio a Leuven, Belgie), pracuje na vývoji nových tříd léčiv, určených ke zvýšení bdělosti a kognitivních schopností (u narkolepsie, kognitivní poruchy, ADHD...). Jedná se o přípravu více tříd vysoce selektivních a účinných blokátorů receptorů H3, regulujících hladinu histaminu a dalších neurotransmiterů v určitých oblastech mozku, které hrají bezprostřední roli v regulaci spánku, pozornosti a kognitivního výkonu. Cílem je vyvinout nestimulační preparát, který je nenávykový, bez nežádoucích účinků typických pro stimulantia.

ADHD je řazena, stejně jako Touretteův syndrom nebo dětský autismus, mezi neurovývojové poruchy. U všech těchto onemocnění jsou nalézány různé odchylky vývoje CNS a současné molekulárně genetické studie se na základě společných či příbuzných genetických nálezů u těchto poruch snaží teoreticky vysvětlit jejich etiopatogenezi a specifikovat neurovývojové abnormality.

Fernandez et al.<sup>19</sup> v roce 2011 publikovali výsledky molekulárně genetické studie, která identifikovala rozdíly ve výskytu dysfunkčních variant histaminových genů u 460 pacientů s Touretteovým syndromem a 1131 kontrolních

subjektů. Analýza ukázala zvýšený počet variant počtu kopií (copy number variation) genů histaminového receptoru (subtyp 1 a 2), jejichž výskyt zvyšuje riziko narušení relevantních signálních drah modulujících vývoj synaptických struktur a funkčních procesů během maturace CNS. Mimo to, autoři upozorňují na částečné překrývání výsledků genetické analýzy u Touretteova syndromu s dříve popsány nálezy u pacientů s poruchami autistického spektra.

## ZÁVĚR

Výsledky dosavadních studií zatím nedaly definitivní odpověď na vztah umělých barviv, aromat a konzervantů v potravě k etiopatogenezi hyperkinetické poruchy / ADHD u dětí. Ve Stevensonově studii nebyla srovnávána citlivost na zátěž aditiv u podskupin dětí s přítomností nebo nepřítomností ADHD. Výsledky však ukazují, že aditiva a konzervanty v potravě pravděpodobně mohou vyvolávat behaviorální změny u disponovaných jedinců, s určitými polymorfismy histaminových genů, které jsou příčinou alergie nebo intolerance na různé cizorodé látky. Výsledky preklinických studií, které potvrzují vztah histaminového systému s kognitivními procesy, a snahy o vývoj preparátů na bázi blokátorů H3 receptorů mohou potenciálně rozšířit možnosti léčby některých behaviorálních a kognitivních poruch ve specifické populaci.

## LITERATURA

1. Feingold BF. Behavioral disturbances linked to the ingestion food additives. Delaware Medical Journal 1977; 49 (2): 89–94.
2. Kavale KA, Forness SR. Hyperactivity and diet treatment: A meta-analysis of the Feingold hypothesis. Journal of Learning Disabilities 1983; 16: 324–330.
3. National Institutes of Health (1982). Defined Diets and Childhood Hyperactivity Consensus Development Conference Summary, Volume 4, Number 3 Available online on [http://consensus.nih.gov/1982/1982\\_DietHyperactivity\\_032html.htm](http://consensus.nih.gov/1982/1982_DietHyperactivity_032html.htm).
4. Schab DW, Trinh NH. Do artificial food colors promote hyper-activity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double blind placebo-controlled trials. Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics 2004; 25 (6): 423–434.
5. Bateman B et al. The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colorings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in general population sample of preschool children. Archives of Disease in Childhood 2004; 89, 506–511.
6. Mc Cann D, Barret A, Cooper A et al. Food additives and hyperactive behavior in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo controlled trial. Lancet 2007; 370: 1560–1567.
7. DuPaul GJ, Power TJ, Anastopoulos AD et al. Teacher rating of ADHD symptoms: factor structure and normative data. Psychol Assess 1997; 9: 436–444.
8. Routh D: Hyperactivity, in Psychological Management of Pediatric Problems. Edited by Magrab P. Baltimore: University Park Press; 1978: 3–8.
9. Abikoff H, Gittelman R. Classroom observation code – a modification of the Stony-Brook code. Psychopharmacol Bulletin 1985; 21: 901–909
10. Conners CK. The Conner Continuous Performance Test. Toronto, Multi-Health Systems, 1994.
11. Stevenson J, Sonuga-Barke E, Mc Cann D et al. The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on childrens ADHD symptoms. Am J Psychiatry 2010; 167 (9): 1108–1115.
12. Rutherford K, Pardon WW, Daggett V. The histamine N-methyltransferase T1051 polymorphism affects active site structure and dynamics. Biochemistry 2008; 47: 893–901.
13. Pelsser LM, Frankena K, Buitelaar JK, Rommelse NN. Effects of food on physical and sleep complaints in children with ADHD: a randomised controlled pilot study. Eur J Pediatrics 2010; 169 (9): 1129–1138.
14. Pelsser LM, Buitelaar JK, Savelkoul HF. ADHD as a (non) allergic hypersensitivity disorder: a hypothesis. Pediatric Allergy Immunol 2009; 20: 107–112.
15. Sakurai E; Sakurai E; Orelan L; Nishiyama S; Kato M; Watanabe T; Yanai K: Evidence for the presence of histamine uptake into the synaptosomes of rat brain. Pharmacology 2006; 78: 72–80.
16. Li-Li Liu, Jie Yang, Ge-Fei Lei et al. Atomoxetine Increases Histamine Release and Improves Learning Deficits in an Animal Model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Nordic Pharmacological Society Eur J Pharmacol 2007; 558(1–3): 96–7.
17. Horner WE, Johnson DE, Schmidt AW, Rollema H. Methylphenidate and atomoxetine increase histamine release in rat prefrontal cortex. The Lancet, 2011, 377 (9764): 446–448.
18. Gemkow MJ, Davenport AJ, Harich S et al. The histamine H3 receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. Drug Discov Today 2009; 14: 509–515.
19. Fernandez TV, Sanders SJ, Yurkiewicz IR et al. Rare copy number variants in Tourette syndrome disrupt genes in histaminergic pathways and overlap with autism. Biol Psychiatry 2011; Dec 12. PMID article.