

Взаємозв'язок поліморфізму val158met гена COMT із тривожністю та варіабельністю ритму серця у дітей з синдромом подразненого кишківника

М. О. Семен¹, О. Л. Личковська^{1, A, C, E, F}, М. Я. Тиркус^{2, A, C, E, F}, Д. В. Камінський^{1, A, C, D, F},
О. П. Єлісеєва^{1, A, C, D, F}

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна, ²ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», м. Львів, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – вивчення особливостей параметрів варіабельності ритму серця й особистісної тривожності, а також їх взаємозв'язку залежно від функціонального поліморфізму val158met гена катехол-О-метилтрансферази в дітей із синдромом подразненого кишківника.

Матеріали та методи. Обстежили 26 дітей віком 6–12 років із синдромом подразненого кишківника, що діагностований відповідно до Римських критеріїв IV. Попередньо всім пацієнтам здійснили молекулярно-генетичне дослідження однонуклетидного поліморфізму val158met гена катехол-О-метилтрансферази методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів. Варіабельність ритму серця оцінили за допомогою кардіоінтервалографії (Нейрософт), короткі 5-хвилинні записи у фоновій пробі. Для визначення рівня особистісної тривожності використали опитувальник CMAS (Children's Manifest Anxiety Scale). Для статистичного аналізу застосували Microsoft Excel 2016 та GraphPad Prism 5.

Результати. Залежно від функціонального поліморфізму гена катехол-О-метилтрансферази обстежених поділили на 3 групи: генотип 472 GA (Val/Met) COMT – 8 осіб; генотип 472 AA (Met/Met) – 10 дітей; генотип 472 GG (Val/Val) – 8 випадків. Часові та спектральні параметри варіабельності ритму серця (BPC) суттєво відрізнялися у кожній із груп. Найвищий рівень тривожності та найбільший відсоток LF-коливань (переважно симпатична активність) у структурі BPC визначили в пацієнтів із генотипом Met/Met. Діти з генотипом Val/Val мали істотно нижчий рівень тривожності та порушення автономного балансу з домінуванням HF-коливань (парасимпатична активність). Прямі кореляційні зв'язки середньої сили між тривожністю та параметрами варіабельності ритму серця виявили в групах Val/Val і Val/Met, а в пацієнтів із генотипом Met/Met таких взаємозв'язків не було.

Висновки. Аналіз впливу функціонального поліморфізму val158met гена катехол-О-метилтрансферази на рівень особистісної тривожності та параметри варіабельності ритму серця показав низку особливостей, що важливі для кращого розуміння порушень цереброінтестинальної взаємодії та стресостійкості в дітей із синдромом подразненого кишківника. Ці відомості можна використати для удосконалення чинних схем лікування шляхом доповнення їх різними засобами активаційної терапії, психотерапії, психофармакотерапії.

Ключові слова:

ген COMT, особистісна тривожність, варіабельність ритму серця, синдром подразненого кишківника, діти.

Запорізький медичний журнал. 2023. Т. 25, № 5(140). С. 439-446

*E-mail: martasemen4@gmail.com

Association between Val158Met polymorphism in the COMT gene with anxiety and heart rate variability in children with irritable bowel syndrome

M. O. Semen, O. L. Lychkovska, M. Ya. Tyrkus, D. V. Kaminsky, O. P. Yelisyeyeva

The aim of this study was to examine the peculiarities of trait anxiety and heart rate variability parameters as well as their relationship depending on the catechol O-methyltransferase (COMT) gene Val158Met polymorphism in children with irritable bowel syndrome.

Materials and methods. A total of 26 children aged 6–12 years with a verified diagnosis of irritable bowel syndrome according to the Rome IV criteria were examined. Beforehand, all the patients underwent molecular genetic testing for the COMT Val158met single nucleotide polymorphism by using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. Heart rate variability was analyzed via cardiointervalography (Neurosoft) based on short five-minute resting-state ECG recordings.

The CMAS (Children's Manifest Anxiety Scale) test was used to measure trait anxiety levels. The Pearson's test was used to assess correlations between heart rate variability parameters and anxiety levels. Data were processed using Microsoft Excel 2016 and analyzed with GraphPad (Prism 5.0).

Results. Depending on the functional COMT Val158met polymorphism, all the patients were allocated to 3 groups: 8 children with 472 GA (Val/Met) COMT genotype; 10 children with 472 AA (Met/Met) genotype; 8 children with 472 GG (Val/Val) genotype. Time and frequency domain parameters of heart rate variability were significantly different in each group.

The highest level of anxiety and the largest percentage of LF component (mainly sympathetic activity) in the structure of heart rate variability was noted among Met/Met carriers. Val/Val carriers had a significantly lower anxiety level and an autonomic imbalance with a higher percentage of HF component (parasympathetic activity). Positive correlations between trait anxiety and heart rate variability parameters were found only in Val/Val and Val/Met groups.

Key words:

COMT gene, trait anxiety, heart rate variability, irritable bowel syndrome, children.

Zaporozhye medical journal, 2023. 25(5), 439-446

Conclusions. Our study has revealed the influence of the COMT Val158met polymorphism on the level of trait anxiety and heart rate variability parameters. It is important for a better understanding of the gut-brain axis dysregulation and impaired stress resilience in children with irritable bowel syndrome. Also, these data could be used to improve current schemes for the treatment of irritable bowel syndrome, supplementing them with activation therapy, psychotherapy, psychopharmacotherapy.

Синдром подразненого кишківника (СПК) – хронічний функціональний гастроінтестинальний розлад, що характеризується абдомінальним болем і змінами частоти та/або консистенції випорожнень, а також позакишковими проявами [1]. Концептуальною моделлю виникнення СПК вважають порушення двосторонніх взаємодій на осі «кишківник – центральна нервова система (ЦНС)» [2]. При СПК не виявляють будь-яких структурних аномалій травної системи, а отже діагностика та класифікація розладу ґрунтується тільки на асоційованих клінічних симптомах [1,3].

Виникнення СПК пов'язане із феноменом вісцеральної гіперчутливості, порушенням модуляції болю, змінами в метаболізмі нейротрансмітерів, розладами моторики, хронічним стресом та автономною дисфункцією [1,2]. Саме автономна нервова система (АНС) відповідає за взаємозв'язок між ЦНС та ентеральною нервовою системою. Відповідно, автономна дисфункція відіграє вкрай важливу роль у виникненні функціональних гастроінтестинальних розладів (ФГР) [4,5].

«Золотим стандартом» неінвазивного оцінювання стану АНС вважають варіабельність ритму серця (ВРС), оскільки ця методика є інформативною, високочутливою та доступною [5,6]. Крім того, ВРС застосовують для вивчення особливостей функціонально-метаболічного резерву й адаптаційних можливостей організму у відповідь на дію стресорів [7,8]. У доступній фаховій літературі виявили обмежену кількість робіт, де наведено відмінності параметрів ВРС у дітей із СПК. Так, M. Jarett et al. не виявили відмінності парасимпатичної активності в дітей із функціональним абдомінальним болем і СПК та групою контролю [9], а G. Chelimsky et al. визначили достовірно нижчу кардіовагальну модуляцію в підлітків із ФГР порівняно з контролем [10]. Дещо інші дані наведено в нашому попередньому дослідженні: крім зниження загальної потужності ВРС у дітей із СПК виявили тенденцію до дефіциту симпатичної активності [11].

Відомо, що крім АНС, регуляція цереброінтестинальної взаємодії також відбувається за допомогою гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикотропної (ГТАК) осі, яка активується під впливом стресорів різного ґенезу [12,13]. Хронічний стрес пов'язаний із порушеннями метаболізму, виникненням феномену вісцеральної гіперчутливості та змінами моторної, секреторної та бар'єрної функцій кишківника [13,14]. Як наслідок виникають соматичні симптоми, що також посилюють психоемоційні розлади (тривожність, депресію тощо), спричиняючи істотне погіршення якості життя пацієнтів, обмеження та зниження адаптаційних можливостей організму [14,15].

Оптимальна реакція-відповідь на стрес формується двома фазами адаптації: негайною, короткотривалою (симптоадреналова система) та тривалою (шляхом ГТАК осі) [16,17]. Ефективність симптоадреналової мобілізації енергетичних ресурсів істотно детермінується адекватним обміном катехоламінів, найперше – адреналіну та норадреналіну [18]. Важливу роль у їх збалансованому метаболізмі відіграє своєчасна утиліза-

ція, що суттєво залежить від ферментативної активності катехол-О-метилтрансферази (COMT, EC 2.1.1.6) [19]. Цей ензим переносить метильну групу S-аденозилметіоніну за наявності магнію до різних катехоламінів і катехолів, спричиняючи їхню деградацію [16].

Функціональний однонуклеотидний поліморфізм COMT-гена val158met (*rs4680*) спричиняє заміну амінокислоти валіну (Val) на метіонін (Met) в позиції 158 і визначає активність ферменту [20]. За даними наукової літератури, ферментативна активність COMT в осіб із генотипом Val/Val на 40 % вища порівняно з Met/Met, а гетерозигота Val/Met забезпечує її проміжну активність [21]. У попередньому дослідженні встановили: в дітей із СПК вищою є частота гомозигот 472 GG (Val/Val) й, особливо, 472 AA (Met/Met) COMT, а в групі контролю достовірно частіше виявляли гетерозиготний генотип 472 GA (Val/Met) COMT [22]. Отже, генетично детерміновані зміни метаболізму катехоламінів впливають і на функціонування ГТАК осі, й на активність АНС, що разом позначається на порушенні цереброінтестинальної взаємодії [23,24].

Механізми формування СПК складні, передбачають залучення різних регуляторних систем. Питання щодо механізмів виникнення розладу залишається відкритим, особливий науковий інтерес викликають зв'язки між окремими ланками на осі «кишківник – ЦНС».

Мета роботи

Вивчення особливостей параметрів варіабельності ритму серця й особистісної тривожності, а також їх взаємозв'язку залежно від функціонального поліморфізму val158met гена катехол-О-метилтрансферази в дітей із синдромом подразненого кишківника.

Матеріали і методи дослідження

Учасники дослідження – 26 пацієнтів педіатричного відділення Львівської обласної дитячої клінічної лікарні «Охматдит» віком від 6 до 12 років ($8,4 \pm 2,0$ року) із діагнозом СПК, що встановлений за Римськими критеріями IV [3]. Серед обстежених – 12 (46,2 %) хлопчиків і 14 (53,8 %) дівчат. Комплексне обстеження пацієнтів передбачало клініко-анамнестичне оцінювання, загальний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові й ультразвукове дослідження внутрішніх органів, копрологічне дослідження, виключення гельмінтозів, посів калу, скринінг целіакії (за показаннями), визначення фекального кальпротектину.

Після виключення органічної патології кишківника та верифікації діагнозу дітей було включено в основну групу. У 10 пацієнтів (38,5 %) діагностували СПК із закрепами, в 7 (26,9 %) – СПК із проносами, у 9 (34,6 %) осіб визначили СПК із попереминими закрепами та проносами. Батьки дітей підписали інформовані згоди щодо участі в дослідженні, що схвалене комісією з питань етики наукових досліджень Львівського національ-

Таблиця 1. Параметри варіабельності ритму серця, що досліджували

Параметри, одиниці вимірювання	Значення	Фізіологічна інтерпретація
Часові параметри		
SDNN, мс	Стандартне відхилення значень RR-інтервалів	Характеризує функціональний стан механізмів регуляції, показує сумарний вплив симпатичного та парасимпатичного відділів АНС
RMSSD, мс	Квадратний корінь із середньоквадратичних різниць послідовних інтервалів RR	Характеризує переважно активність парасимпатичного відділу АНС
pNN50, %	Відсоток послідовних RR-інтервалів, що відрізняються більше ніж на 50 мс	Характеризує активність переважно парасимпатичного відділу нервової системи
CV, %	Коефіцієнт варіації	За фізіологічним змістом не відрізняється від SDNN і є нормованим за ЧСС. $CV = SDNN / RRNN \times 100\%$, де RRNN – середня тривалість кардіоінтервалів
Спектральні параметри		
TP, мс ²	Загальна спектральна потужність (0,01–0,40 Гц)	Показує сумарну активність регуляційних компонент серцевого ритму
VLF, мс ²	Дуже низькочастотні коливання (0,01–0,04 Гц)	Включає активність нейрогуморального компонента регуляції та церебральні ерготропні впливи
LF, мс ²	Низькочастотні коливання (0,04–0,15 Гц)	Характеризує переважно симпатичну активність, але певною мірою залежить від активності парасимпатичного відділу АНС
HF, мс ²	Високочастотні коливання (0,15–0,40 Гц)	Відбиває вагусний компонент регуляції серцевого ритму
LF/HF	Відношення низькочастотних до високочастотних компонент спектру	Характеризує баланс між симпатичними та парасимпатичними впливами на ритм серця
LF norm	Потужність спектра на частоті 0,05–0,15 Гц, виражена в нормалізованих одиницях $LF_{n.u.} = LF / (TP - VLF) \times 100\%$	Характеризує переважно симпатичну активність
HF norm	Потужність спектра на частоті 0,15–0,4 Гц, виражена в нормалізованих одиницях $HF_{n.u.} = HF / (TP - VLF) \times 100\%$	Відбиває парасимпатичний компонент регуляції серцевого ритму

ного медичного університету імені Данила Галицького (протокол від 26.10.2020 № 7).

Критерії залучення в дослідження: СПК, діагностований відповідно до Римських критеріїв IV; вік пацієнтів від 6 до 12 років, відсутність хронічних супутніх захворювань (крім інших функціональних гастроінтестинальних розладів, патогенетично пов'язаних із СПК); інформована згода батьків і дитини на участь у дослідженні; проживання з народження в межах Львова та Львівської області (Карпатська гено-географічна зона). Критерії виключення з дослідження: вік пацієнта до 6 років або понад 12 років; відсутність згоди батьків і/або дитини на участь у дослідженні; діти з внутрішньо переміщених сімей; наявність супутньої вродженої та набутої патології.

Молекулярно-генетичне дослідження однонуклетидного поліморфізму val158met гена COMT *rs4680* виконали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» з наступним аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів. Використовували суміш dDNTP, термостійку DreamTaq Green ДНК полімерази, олігонуклеотиди й ендонуклеазу рестрикції (ThermoFisher scientific, USA). Специфічність ПЛР-продуктів визначали послідовністю специфічних праймерів, температурою відпалу та складом реакційного ТБЕ-буфера. Електрофорез тотальної ДНК і продуктів ПЛР виконали в 2% агарозному гелі в камері для горизонтального електрофорезу «MGU-202Т». Електрофореграми сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ЕСХ-15.М». Результати сканування гелів знімали цифровою камерою «Gel Imager» через червоний світлофільтр на ультрафіолетовому транслюмінаторі при довжині хвилі 256 нм. Дослідження здійснили в лабораторії генетичних досліджень ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» (м. Львів).

Для вивчення особливостей регуляторних систем (нейрогуморальних механізмів і функціонального стану АНС), а також для визначення адаптаційного потенціалу

організму використали методику варіабельності ритму серця (ВРС), який оцінювали за допомогою електрокардіографа ВНС-мікро та відповідного програмного забезпечення (Neurosoft). ВРС досліджували у фоновій пробі (в положенні лежачи) в тихій кімнаті за температури 20–22 °С, тривалість запису – 5 хвилин. Результати інтерпретували відповідно до кардіоритмологічних стандартів (розклад Фур'є для аналізу RR інтервалів) [25]. У таблиці 1 наведено перелік часових і спектральних параметрів ВРС, що оцінювали, а також їхні фізіологічні значення.

Рівень тривожності оцінювали за допомогою тесту CMAS (Children's Manifest Anxiety Scale). Особистісна тривожність (trait anxiety), яку дає змогу виявити цей опитувальник, на протипагу реактивної тривожності, не пов'язана з певною стресовою ситуацією, а є доволі стійкою рисою особистості дитини. Основа для первинного варіанта тесту [26] – шкала явної тривожності для дорослих MAS (Manifest Anxiety Scale). Для дитячого варіанта тесту обрали 42 твердження, що відповідали ознакам тривожного розладу в дітей. Зважаючи на те, що діти мають схильність шукати «правильні», «бажані» відповіді, до опитувальника було додано 11 пунктів (Lie Scale). Під час тесту дитина оцінює кожне твердження як «правильне» або «неправильне», і чим більша кількість позитивних відповідей, тим вищий рівень тривожності в пацієнта. Як підвищений рівень особистісної тривожності в дітей віком 6–12 років визначили 14 балів і більше.

Для статистичного опрацювання даних використали програмне забезпечення MS Excel 2016 (Microsoft Corporation, США) та GraphPad Prism 5 (США, № ліцензії 05f97cf7525c20b56c73b7b6fc485b1f) відповідно до загальноприйнятих методів математичної статистики. Кількісні змінні наведено як медіана, 25 і 75 перцентилі (параметри ВРС), а також середнє значення і стандартне відхилення (рівень тривожності). Нормальність розподілу змінних визначали за тестом Шапіро–Вілкс. Для

Таблиця 2. Параметри варіабельності ритму серця в дітей із СПК і різними генотипами локусу 472 G>A (Val158Met) гена COMT (катехол-О-метилтрансферази), Ме [25 %; 75 %]

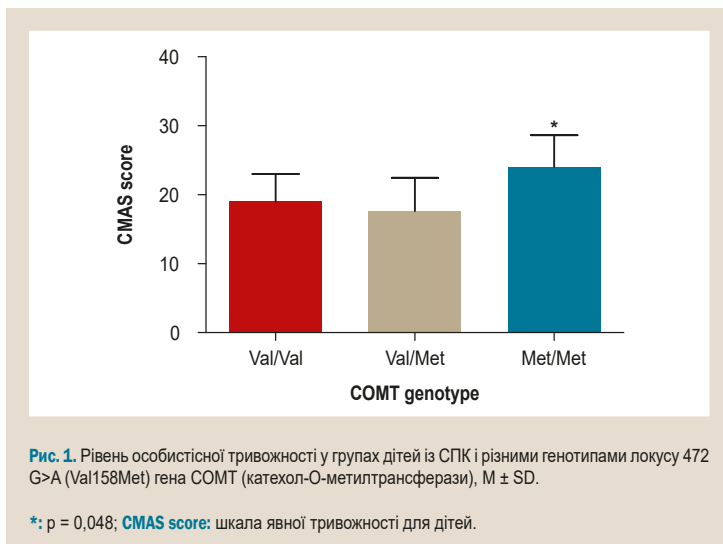
Параметри, одиниці вимірювання	Val/Val, n = 8	Val/Met, n = 8	Met/Met, n = 10	p
SDNN, ms	73 [51; 91]	48 [35; 57]	51 [42; 87]	0,102
RMSSD, ms	80 [48; 104]	51 [30; 59]	52 [34; 97]	0,257
pNN50, %	40 [21; 59]	24 [9; 35]	29 [10; 53]	0,367
CV, %	10,2 [7,9; 11,9]	6,7 [4,8; 8,9]	7,8 [6,2; 10,6]	0,057
TP, ms ²	5100 [2585; 7994]	1225 [1030; 2806]	2168 [1438; 6831]	0,026*
VLF, ms ²	772 [727; 1333]	556 [226; 715]	527 [413; 800]	0,019*
LF, ms ²	1313 [627; 1975]	387 [212; 930]	904 [450; 2366]	0,045*
HF, ms ²	2769 [1196; 4712]	541 [294; 1211]	826 [376; 3753]	0,037*
LF norm	29,1 [22; 48]	41,8 [30; 51]	50,8 [38; 64]	0,062
HF norm	70,9 [52; 78]	58,2 [49; 70]	49,2 [36; 62]	0,062
LF/HF	0,42 [0,28; 0,96]	0,74 [0,44; 1,03]	1,04 [0,54; 1,79]	0,062
VLF, %	21,1 [13; 29]	32,2 [24; 44]	24,5 [12; 45]	0,202
LF, %	23,2 [17; 37]	27,3 [21; 35]	35,8 [25; 45]	0,177
HF, %	53,2 [41; 66]	39,2 [28; 54]	38 [24; 55]	0,280
HR, bpm	84 [75; 92]	88 [86; 91]	81 [71; 98]	0,385

HR: частота серцевих скорочень, уд./хв; *: достовірна різниця між групами.

Таблиця 3. Коефіцієнт кореляції Пірсона (r) між рівнем тривожності та показниками ВРС у дітей із СПК залежно від функціонального поліморфізму rs4680 гена COMT

Показник, одиниці вимірювання	Val/Val, n = 8		Val/Met, n = 8		Met/Met, n = 10	
	Коефіцієнт Пірсона, r	p	Коефіцієнт Пірсона, r	p	Коефіцієнт Пірсона, r	p
TP, ms ²	+0,43	0,287	+0,64	0,089	+0,27	0,447
VLF, ms ²	+0,91	0,002*	+0,48	0,233	-0,21	0,559
LF, ms ²	+0,75	0,034*	+0,77	0,025*	+0,05	0,888
HF, ms ²	+0,15	0,721	+0,55	0,158	+0,42	0,225

*: вірогідна різниця між групами.



параметричних змінних (рівень тривожності) вірогідність різниці між середніми величинами у вибірках визначали за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA, враховуючи корекцію Бонферроні. Для непараметричних змінних (параметри ВРС) вірогідність різниці між медіанами у вибірках визначали за допомогою тесту Крускала–Воїса, статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за критерієм Даннета. Кореляційний зв'язок між рівнем тривожності та параметрами ВРС встановлювали за допомогою кореляційного коефіцієнта Пірсона. Величину $p < 0,05$ вважали статистично значущою.

Результати

Залежно від функціонального поліморфізму rs4680 гена COMT пацієнтів поділили на 3 групи: у 8 дітей виявлено гетерозиготний генотип 472 GA (Val/Met) COMT, у 10 – гомозиготу 472 AA (Met/Met), у 8 обстежених – 472 GG (Val/Val). Такий поділ дав змогу виявити особливості особистісної тривожності та параметрів ВРС у групах дітей із різними генотипами. Так, найвищий рівень тривожності мали пацієнти з гомозиготою Met/Met – $24,0 \pm 1,6$ бала ($p = 0,048$). У групах Val/Val та Val/Met показник особистісної тривожності істотно нижчий, становив $19,0 \pm 4,0$ та $17,6 \pm 1,7$ бала відповідно (рис. 1).

Дослідження ВРС показало відмінності, притаманні для кожного генотипу, незважаючи на те, що до кожної групи потрапили пацієнти і з високими, і з низькими значеннями параметрів ВРС (табл. 2). Зазначимо, що найбільш однорідною за часовими та спектральними показниками ВРС була саме група з гетерозиготним генотипом Val/Met, який вважають протективним щодо виникнення СПК [22,24]. Групи дітей із гомозиготними генотипами Val/Val і Met/Met більш неоднорідні, зі значними відмінностями параметрів ВРС.

Детальний аналіз внутрішньої структури спектра ВРС пацієнтів кожної з груп виявив істотні відмінності, що асоціюється з різною функціональною активністю ферменту COMT залежно від генотипу. Як показано в нашому попередньому дослідженні, дітям із СПК притаманні зниження загальної ВРС (TP) і порушення внутрішньої структури спектра: дефіцит симпатичної активності (LF-коливання), зниження парасимпатичної

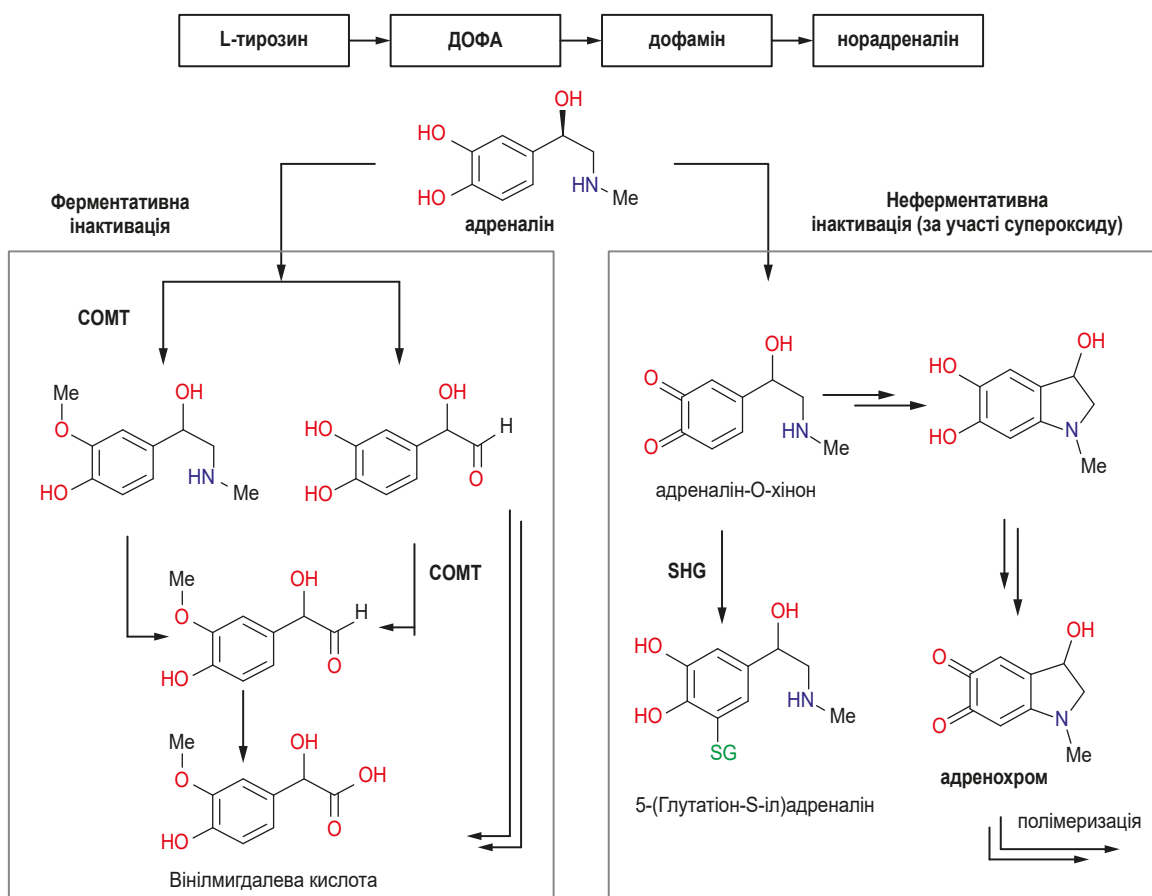


Рис. 2. Основні напрями інактивації катехоламінів (адреналіну), адаптовано за [16,34].

активності (HF-коливання), а отже і вища активність нейрогуморальних впливів (VLF-коливання) [11]. Зазначимо, що такий розподіл спектральних компонент характерний для групи з гетерозиготним генотипом Val/Met. Виявлена дисфункція автономної нервової системи підтверджена також часовими параметрами ВРС, особливо rNN50 та CV (табл. 2).

Відмінний профіль показників ВРС виявили у групах дітей із гомозиготними генотипами. Так, пацієнти з групи Val/Val, для якої характерна найвища активність COMT, мали найнижчу активність симпатичної нервової системи, але високий відсоток HF-коливань (53 % у структурі спектра) забезпечив найвищу загальну спектральну потужність ВРС (за значенням TP). Внаслідок цього значення всіх часових параметрів ВРС також найвищі в пацієнтів цієї групи. У пацієнтів із генотипом Met/Met, що асоційований із найнижчою активністю COMT, визначили найвищий відсоток LF-коливань (36 % у структурі спектра) і знижену активність HF-коливань (38 %). Загалом внутрішня структура спектра ВРС характеризує низьку стресостійкість; це підтверджено найвищим рівнем особистісної тривожності в пацієнтів цієї групи.

Оскільки ВРС – чутливий маркер оцінювання стрес-асоційованих порушень, важливо дослідити взаємозв'язки між її параметрами та рівнем особистісної тривожності залежно від функціонального поліморфізму rs4680 гена COMT. Звернули увагу на абсолютно відмін-

ний характер кореляційних зв'язків, що вивчали, у кожній із груп (табл. 3). У дітей із гетерозиготним генотипом Val/Met вони прямі середньої сили, крім сильного зв'язку з параметром LF ($p = 0,025$). У групі гомозигот 472 Val/Val кореляційні зв'язки прямі, але різної сили: слабкий – із HF, середньої сили – з TP, сильні – з VLF ($p = 0,002$) та LF ($p = 0,034$). У дітей із генотипом Met/Met, котрі мали найвищий рівень тривожності, ці зв'язки різні, переважно слабкі (табл. 3). Крім того, саме в цій групі не виявили зв'язок із параметром LF ($r < 0,1$). Очевидно, такі особливості кореляційних зв'язків можуть бути співвіднесені саме з різною активністю COMT у кожній із груп дослідження [21,24].

Обговорення

Особливості ВРС відповідно до функціонального поліморфізму val158met гена COMT досліджені недостатньо, у доступній фаховій літературі виявили лише кілька таких робіт. Так, A. Mueller et al. виявили: у відповідь на дію стрес-фактора для дітей із гомозиготним генотипом Val/Val характерне більш стрімке зниження ВРС (за параметром RMSSD), а також її повільніше відновлення порівняно з обстеженими з генотипом Met/Met [23]. Chang H. A. et al. визначили: у молодих людей із генералізованим тривожним розладом, які мали хоча б одну Met алель, нижча парасимпатична активність (амплітуда

HF-коливання), що, до того ж, асоціювалася з вищим рівнем тривожності, ніж в обстежених із гомозиготним генотипом Val/Val [27].

Зауважимо, в науковій літературі наведено суперечливі результати щодо впливу функціонального поліморфізму val158met гена COMT на рівень тривожності. Niarchou M. et al. не виявили зв'язки між генотипом і виникненням тривожних розладів у дітей віком 8–12 років [28]. Втім, M. McGrath et al. встановили: у здорових жінок гомозиготний генотип Val/Val асоціювався з підвищеним ризиком тривожно-фобічних розладів (OR = 1,99, 95 %; CI 1,17–3,40) [29]. У роботі Fernández-de-Las-Peñas C. et al., котрі обстежили жінок із хронічною мігренню, показано істотно вищий рівень тривожності та депресії саме в групі пацієнтів із гомозиготним генотипом Met/Met [30]. Подібні дані отримали A. Hajj et al., визначили вищий рівень тривожності та депресії у жінок, хворих на рак молочної залози, з гомозиготним генотипом Met/Met [31].

Результати нашого дослідження показали достовірно вищий рівень особистісної тривожності ($p = 0,048$) у дітей із СПК з генотипом Met/Met порівняно з обстеженими з Val/Val та Val/Met. Імовірно, це можна пояснити найнижчою активністю ферменту COMT у цій групі, що призводить до порушення утилізації катехоламінів (їх надмірне накопичення – фактор ризику виникнення стрес-асоційованих порушень, зокрема тривожності) [32].

Невчасна елімінація адреналіну й норадреналіну, що водночас є нейротрансмітерами та гормонами, може спричинити додаткове поглиблення стресу. Фермент інактивації катехоламінів COMT – один із ключових модуляторів активності симпатoadrenalової системи, що істотно детермінує ефективність реакції-відповіді організму на дію стресорів [19]. Отже, генетично детермінована активність COMT може мати вагомий вплив на формування потенціалу стресостійкості організму. Зауважимо: за умови низької ферментативної активності COMT елімінацію катехоламінів більшою мірою забезпечують інші метаболічні шляхи (окремі з них наведено на рис. 2). Залучення неферментативного механізму окиснення катехоламінів до адренохрому (хіноїдна оксидация адреналіну) за участю супероксиду може бути причиною неконтрольованого характеру вільнорадикальних реакцій і поглиблення окисного стресу [17,33].

Відомо, що найнижча активність COMT призводить до тривалої циркуляції катехоламінів у крові та клітинах-ефекторах, а отже може спричинити поглиблення хронічного стресу. За таких умов до інактивації катехоламінів долучаються інші метаболічні шляхи, як-от неферментативна інактивація за участю вільних радикалів (рис. 2). Внаслідок цього утворені при хіноїдній оксидации реактивні недоокиснені метаболіти можуть бути тригером нових норадренергічних / адренергічних реакцій («стрес на стрес») [16,20,35]. При цьому ВРС формується переважно шляхом симпатичної нервової системи (LF), центральних церебральних впливів (VLF) із певним дефіцитом HF-коливань (активність парасимпатичної нервової системи).

Саме таку внутрішню структуру спектра виявили в пацієнтів із генотипом Met/Met; це підтверджено і в роботах інших авторів [27]. Тривале напруження адаптаційних реакцій призводить до порушення стресостійкості

організму та може бути підґрунтям для істотно вищого рівня особистісної тривожності в пацієнтів цієї групи. ВРС, що є чутливим маркером хронічного стресу, при цьому знижується, а у внутрішній структурі зменшується амплітуда HF-коливань із переважанням VLF- та LF-коливань. Зауважимо, що під час кореляційного аналізу в дітей із генотипом Met/Met виявили слабкий зв'язок між показниками ВРС і тривожності. Відсутність кореляції з параметром LF у цій групі можна пояснити не лише найнижчою активністю COMT, але й більшим залученням інших метаболічних шляхів елімінації катехоламінів, особливо хіноїдної оксидации (рис. 2).

Разом із тим, діти з гомозиготним генотипом Val/Val мали найвищу загальну ВРС і північний відсоток HF-коливань у структурі спектра. Найвища ферментативна активність COMT, що, за даними наукової літератури, притаманна цій групі, може бути причиною надмірно швидкої елімінації катехоламінів [16,21]. Це спричиняє певний дефіцит норадренергічних / адренергічних впливів у забезпеченні ефективної реакції-відповіді організму на дію стресорів. Підтвердженням є низький відсоток LF-коливань у структурі спектра ВРС і значне порушення автономного балансу в пацієнтів. Крім того, кореляційний аналіз показав: особистісна тривожність у цій групі істотно залежала не тільки від симпатичної ланки АНС, але й тісно пов'язана з центральними церебральними впливами. Втім, наголосимо на високій парасимпатичній активності (за параметрами RMSSD і HF), що може бути чинником ефективнішого відновлення функціонально-метаболічного резерву організму. Подібні результати одержали Y. A. Chang et al., які також виявили в осіб із генотипом Val/Val вищу парасимпатичну активність (HF), а отже і нижчий рівень тривожності, порівнюючи з носіями Met-алелей [27].

У групі дітей із гетерозиготним генотипом Val/Met, для якого характерна проміжна активність ферменту COMT, визначили найнижчий рівень тривожності. Втім, аналіз структурних компонент ВРС показав доволі високий ступінь залучення центральних церебральних впливів (VLF) і тенденцію до зниженої активності автономної ланки регуляції (LF, HF). Безумовно, саме такий розподіл спектральних показників зумовив низьку загальну ВРС (за параметром TP). Ба більше, виявлений сильний прямий кореляційний зв'язок між рівнем тривожності та показником LF вказує на певну напруженість механізмів регуляції ВРС симпатичною нервовою системою.

Аналіз впливу функціонального поліморфізму rs4680 гена COMT на рівень особистісної тривожності та ВРС показав низку особливостей, важливих для кращого розуміння порушень цереброінтестинальної взаємодії та стресостійкості в дітей із СПК. Припускаємо, що найвищий рівень особистісної тривожності та дефіцит HF-коливань у структурі спектра ВРС пацієнтів із генотипом Met/Met можна пояснити тривалою циркуляцією катехоламінів та їхніх недоокиснених метаболітів, що спричиняє поглиблення стрес-асоційованих розладів [20,35]. Цікаво, що в пацієнтів із генотипом Val/Val виявили іншу структуру спектра ВРС: високий відсоток HF-коливань, а отже виражений зсув автономного балансу (LF/HF) з домінуванням парасимпатичної активності. Як правило, така ВРС асоціюється з вищою

стресостійкістю, зниженою реактивністю, тобто нижчим рівнем тривожності. В осіб із гетерозиготним генотипом Val/Met також виявили інші особливості ВРС, що характеризували знижену стресостійкість, спричинену недостатньою активністю автономної нервової системи та, як наслідок, посиленням центральних церебральних впливів (VLF).

Результати, що одержали під час дослідження, можна використати для удосконалення чинних схем лікування СПК у дітей, додавши до них різні засоби активаційної терапії, психотерапії, психофармакотерапії, залежно від функціонального поліморфізму гена COMT.

Висновки

1. Результати дослідження підтвердили наявність асоціації між генотипом поліморфізму *rs4680* гена COMT, рівнем особистісної тривожності та параметрами ВРС у дітей із СПК.

2. Найвищий рівень особистісної тривожності та найбільший відсоток LF-коливань у структурі ВРС виявили в пацієнтів із гомозиготним генотипом Met/Met COMT. Це може бути зумовлено найнижчою ферментативною активністю COMT.

3. У дітей із гомозиготним генотипом Val/Val визначили істотно нижчий рівень особистісної тривожності, дефіцит LF-коливань і порушення автономного балансу в бік домінування HF-коливань. Це може бути спричинене найвищою ферментативною активністю COMT.

4. Кореляційний аналіз між рівнем особистісної тривожності та параметром LF, що асоціюється з активністю симпатичної нервової системи, показав сильний взаємозв'язок у групах Val/Val і Val/Met. У пацієнтів із генотипом Met/Met не виявили такої кореляції, що може вказувати на активніше залучення інших, крім COMT, шляхів деградації катехоламінів.

Перспективи подальших досліджень. Моніторинг ВРС може бути перспективним неінвазивним методом не тільки для оцінювання функціональних резервів організму. Так, його можна виконувати в динаміці для контролю за ефективністю призначеного лікування. Крім того, результати дослідження дають підстави пропонувати оцінювання ВРС в ортостазі та після нестривалого стресового навантаження (опитувальники, навчальні завдання, фізичні вправи). Це дасть змогу уточнити ефективність реакції-відповіді та потенціалу стресостійкості організму (за динамікою змін загальної ВРС і внутрішньої структури спектра).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 11.05.2023

Після доопрацювання / Revised: 23.05.2023

Схвалено до друку / Accepted: 06.06.2023

Відомості про авторів:

Семен М. О., аспірант каф. пропедевтики педіатрії та медичної генетики, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-8464-7412

Личковська О. Л., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики педіатрії та медичної генетики, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-8789-6310

Тиркус М. Я., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, відділення діагностики спадкової патології, ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», м. Львів.
ORCID ID: 0009-0006-9353-4707

Камінський Д. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-6837-367X

Єлісеєва О. П., д-р біол. наук, професор каф. гістології, цитології та ембріології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-9003-4532

Information about the authors:

Semen M. O., MD, PhD Student, Department of Propaedeutics of Pediatrics and Medical Genetics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Lychkovska O. L., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Pediatrics and Medical Genetics, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Tyrkus M. Ya., PhD, Senior Researcher, Institute of Hereditary Pathology of the NAMS of Ukraine, Lviv.

Kaminsky D. V., PhD, Associate Professor, Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Yelisyeyeva O. P., PhD, DSc, Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

References

- Devanarayana, N. M., & Rajindrajith, S. (2018). Irritable bowel syndrome in children: Current knowledge, challenges and opportunities. *World journal of gastroenterology*, 24(21), 2211-2235. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i21.2211>
- Ford, A. C., Sperber, A. D., Corsetti, M., & Camilleri, M. (2020). Irritable bowel syndrome. *Lancet*, 396(10263), 1675-1688. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31548-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31548-8)
- Hyams, J. S., Di Lorenzo, C., Saps, M., Shulman, R. J., Staiano, A., & van Tilburg, M. (2016). Functional Disorders: Children and Adolescents. *Gastroenterology*, S0016-5085(16)00181-5. Advance online publication. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.015>
- Salvioli, B., Pellegatta, G., Malacarne, M., Pace, F., Malesci, A., Paganini, M., & Lucini, D. (2015). Autonomic nervous system dysregulation in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology and motility*, 27(3), 423-430. <https://doi.org/10.1111/nmo.12512>
- Ali, M. K., & Chen, J. D. Z. (2023). Roles of Heart Rate Variability in Assessing Autonomic Nervous System in Functional Gastrointestinal Disorders: A Systematic Review. *Diagnostics*, 13(2), 293. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13020293>
- Taralov, Z. Z., Terziyski, K. V., & Kostianev, S. S. (2015). Heart Rate Variability as a Method for Assessment of the Autonomic Nervous System and the Adaptations to Different Physiological and Pathological Conditions. *Folia medica*, 57(3-4), 173-180. <https://doi.org/10.1515/foimed-2015-0036>
- Verkuil, B., Brosschot, J. F., Tollenaar, M. S., Lane, R. D., & Thayer, J. F. (2016). Prolonged Non-metabolic Heart Rate Variability Reduction as a Physiological Marker of Psychological Stress in Daily Life. *Annals of behavioral medicine*, 50(5), 704-714. <https://doi.org/10.1007/s12160-016-9795-7>
- Yelisyeyeva, O., Semen, K., Zarkovic, N., Kaminsky, D., Lutsyk, O., & Rybalchenko, V. (2012). Activation of aerobic metabolism by Amaranth oil improves heart rate variability both in athletes and patients with type 2 diabetes mellitus. *Archives of physiology and biochemistry*, 118(2), 47-57. <https://doi.org/10.3109/13813455.2012.659259>
- Jarrett, M., Heitkemper, M., Czyzewski, D., Zeltzer, L., & Shulman, R. J. (2012). Autonomic nervous system function in young children with functional abdominal pain or irritable bowel syndrome. *The journal of pain*, 13(5), 477-484. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.02.007>
- Chelimsky, G., Rausch, S., Bierer, D., Feng, M., Simpson, P., Awe, E., & Chelimsky, T. (2019). Cardiovascular modulation in pediatric functional gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterology and motility*, 31(5), e13564. <https://doi.org/10.1111/nmo.13564>

11. Semen, M. O., Lychkovska, O. L., Semen, V. D., & Yelisyeyeva, O. P. (2022). Variabelnist rytmu sertsia ta osobystisna tryvozhnist u ditei iz syndromom podraznenoho kyshkivnyka: chy ye zviazok? [Heart rate variability and trait anxiety in children with irritable bowel syndrome: is there a link?]. *Zaporozhye medical journal*, 24(5), 547-555. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.5.256942>
12. Chang, L., Sundaresh, S., Elliott, J., Anton, P. A., Baldi, P., Licudine, A., Mayer, M., Vuong, T., Hirano, M., Naliboff, B. D., Ameen, V. Z., & Mayer, E. A. (2009). Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology and motility*, 21(2), 149-159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01171.x>
13. Khlevner, J., Park, Y., & Margolis, K. G. (2018). Brain-Gut Axis: Clinical Implications. *Gastroenterology clinics of North America*, 47(4), 727-739. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2018.07.002>
14. Qin, H. Y., Cheng, C. W., Tang, X. D., & Bian, Z. X. (2014). Impact of psychological stress on irritable bowel syndrome. *World journal of gastroenterology*, 20(39), 14126-14131. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i39.14126>
15. Stasi, C., Rosselli, M., Bellini, M., Laffi, G., & Milani, S. (2012). Altered neuro-endocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and the bottom-up model. *Journal of gastroenterology*, 47(11), 1177-1185. <https://doi.org/10.1007/s00535-012-0627-7>
16. Kvetnansky, R., Sabban, E. L., & Palkovits, M. (2009). Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiological reviews*, 89(2), 535-606. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2006>
17. Volko, C. D., Regidor, P. A., & Rohr, U. D. (2016). Model approach for stress induced steroidal hormone cascade changes in severe mental diseases. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, 25(3), 157-170. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0038>
18. Eisenhofer, G., Kopin, I. J., & Goldstein, D. S. (2004). Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacological reviews*, 56(3), 331-349. <https://doi.org/10.1124/pr.56.3.1>
19. Bastos, P., Gomes, T., & Ribeiro, L. (2017). Catechol-O-Methyltransferase (COMT): An Update on Its Role in Cancer, Neurological and Cardiovascular Diseases. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 173, 1-39. https://doi.org/10.1007/112_2017_2
20. Serrano, J. M., Banks, J. B., Fagan, T. J., & Tartar, J. L. (2019). The influence of Val158Met COMT on physiological stress responsivity. *Stress*, 22(2), 276-279. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1553949>
21. Chen, J., Lipska, B. K., Halim, N., Ma, Q. D., Matsumoto, M., Melhem, S., Kolachana, B. S., Hyde, T. M., Herman, M. M., Apud, J., Egan, M. F., Kleinman, J. E., & Weinberger, D. R. (2004). Functional analysis of genetic variation in catechol-O-methyltransferase (COMT): effects on mRNA, protein, and enzyme activity in postmortem human brain. *American journal of human genetics*, 75(5), 807-821. <https://doi.org/10.1086/425589>
22. Semen, M. O., Lychkovska, O. L., Shymanska, I. E., Semen, V. D., & Makukh, H. V. (2022). Vysoka chastota homozyotnoho henotyphu 472AA COMT (Val158) hena katechol-O-metyltransferazy (COMT) u ditei iz syndromom podraznenoho kyshkivnyka [High frequency of the 472AA COMT (Val158) homozygous genotype of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene in children with irritable bowel syndrome]. *Modern Pediatrics. Ukraine*, 6(126), 23-29. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/SP.2022.126.23>
23. Mueller, A., Strahler, J., Armbruster, D., Lesch, K. P., Brocke, B., & Kirschbaum, C. (2012). Genetic contributions to acute autonomic stress responsiveness in children. *International journal of psychophysiology*, 83(3), 302-308. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2011.11.007>
24. Karling, P., Danielsson, Å., Wikgren, M., Söderström, I., Del-Favero, J., Adolfsson, R., & Norrback, K. F. (2011). The relationship between the val158met catechol-O-methyltransferase (COMT) polymorphism and irritable bowel syndrome. *PLoS one*, 6(3), e18035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018035>
25. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. (1996). *Circulation*, 93(5), 1043-1065. <https://doi.org/10.1161/01.cir.93.5.1043>
26. Castaneda, A., McCandless, B. R., & Palermo, D. S. (1956). The children's form of the manifest anxiety scale. *Child development*, 27(3), 317. <https://doi.org/10.2307/1126201>
27. Chang, H. A., Fang, W. H., Wan, F. J., Tzeng, N. S., Liu, Y. P., Shyu, J. F., Huang, S. Y., Chang, T. C., & Chang, C. C. (2019). Age-specific associations among functional COMT Val¹⁵⁸Met polymorphism, resting parasympathetic nervous control and generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 106, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.03.020>
28. Niarchou, M., Zammit, S., Escott-Price, V., Owen, M. J., & van den Bree, M. B. (2014). Exploring the indirect effects of catechol-O-methyltransferase (COMT) genotype on psychotic experiences through cognitive function and anxiety disorders in a large birth cohort of children. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics*, 165B(5), 410-420. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32245>
29. McGrath, M., Kawachi, I., Ascherio, A., Colditz, G. A., Hunter, D. J., & De Vivo, I. (2004). Association between catechol-O-methyltransferase and phobic anxiety. *The American journal of psychiatry*, 161(9), 1703-1705. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.9.1703>
30. Fernández-de-Las-Peñas, C., Ambite-Quesada, S., Florencio, L. L., Palacios-Ceña, M., Ordás-Bandera, C., & Arendt-Nielsen, L. (2019). Catechol-O-Methyltransferase Val158Met Polymorphism Is Associated with Anxiety, Depression, and Widespread Pressure Pain Sensitivity in Women with Chronic, but Not Episodic, Migraine. *Pain medicine*, 20(7), 1409-1417. <https://doi.org/10.1093/pm/pny237>
31. Hajji, A., Hachem, R., Khoury, R., Hallit, S., Eljebbawi, B., Nasr, F., El Karak, F., Chahine, G., Kattan, J., & Rabbaa Khabbaz, L. (2021). Clinical and genetic factors associated with anxiety and depression in breast cancer patients: a cross-sectional study. *BMC cancer*, 21(1), 872. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08615-9>
32. Ren, X., Zhang, L., Xiao, Q., Huang, D., Liu, Q., & Zhang, Y. (2019). Association between COMT polymorphism, labor anxiety, and analgesia in pregnant women. *Journal of pain research*, 12, 779-785. <https://doi.org/10.2147/JPR.S192719>
33. Sies, H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>
34. Costa, V. M., Silva, R., Ferreira, L. M., Branco, P. S., Carvalho, F., Bastos, M. L., Carvalho, R. A., Carvalho, M., & Remião, F. (2007). Oxidation process of adrenaline in freshly isolated rat cardiomyocytes: formation of adrenochrome, quinoproteins, and GSH adduct. *Chemical research in toxicology*, 20(8), 1183-1191. <https://doi.org/10.1021/bx7000916>
35. Berman, S., Suyenobu, B., Naliboff, B. D., Bueller, J., Stains, J., Wong, H., Mandelkern, M., Fitzgerald, L., Ohning, G., Gupta, A., Labus, J. S., Tillisch, K., & Mayer, E. A. (2012). Evidence for alterations in central noradrenergic signaling in irritable bowel syndrome. *NeuroImage*, 63(4), 1854-1863. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.08.028>