

Ocena jakości snu w odniesieniu do stężenia serotoniny i melatoniny w surowicy u osób z marskością wątroby

Evaluation of the quality of sleep in relation to serotonin and melatonin levels in patients with liver cirrhosis

KAROLINA TOMASZEWSKA-WARDA¹, EWA WALECKA-KAPICA²,
MONIKA PAWŁOWICZ¹, PATRYCJA WACHOWSKA-KELLY¹,
CEZARY CHOJNACKI²

¹Klinika Gastroenterologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Żywienia Klinicznego i Diagnostyki Gastroenterologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

U osób z marskością wątroby występują zaburzenia snu, co zwykle wiąże się ze zmianą rytmu wydzielania melatoniny i jej metabolizmu. Zespół opóźnionej fazy snu nie zawsze koreluje ze stopniem uszkodzenia wątroby, co wskazuje na udział innych czynników w jego patogenezie. Celem badania było określenie zależności między nocnym wydzielaniem serotoniny i melatoniny a stopniem zaburzeń snu. Do badań włączono 60 osób z marskością wątroby (grupa badana) i 30 osób zdrowych (grupa kontrolna). W porównaniu do grupy kontrolnej, u chorych z pierwszym stopniem encefalopatii wątrobowej (wg skali West Haven) o godzinie 2:00 stwierdzono niższe stężenie melatoniny w surowicy (odpowiednio $57,5 \pm 10,2$ pg/mL i $41,2 \pm 9,4$ pg/mL, $p < 0,05$), zaś u osób z drugim stopniem encefalopatii - niższe stężenie serotoniny (odpowiednio $171,2 \pm 45,0$ i $108,4 \pm 29,3$ µg/mL, $p < 0,01$). Stężenia hormonów ujemnie korelowały ze stopniem zaburzeń snu. Uzyskane wyniki wskazują, że u chorych z marskością wątroby występują zmiany homeostazy zarówno melatoniny, jak i serotoniny, które mogą być przyczyną zaburzeń snu.

Słowa kluczowe: marskość wątroby, encefalopatia, serotonina, melatonina, zaburzenia snu

Abstract

Sleep disorders occur in people who suffer from liver cirrhosis, this usually involves a change in the rhythm of melatonin secretion and its metabolism. Delayed sleep phase syndrome does not always correlate with the degree of liver

Adres do korespondencji: Karolina Tomaszewska-Warda, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. Wojskowej Akademii Medycznej - Centralny Szpital Weteranów, Klinika Gastroenterologii, 91-647 Łódź Plac Hallera 1; tel.: 42 639 30 46, email: kn.t.warda@gmail.com

damage, indicating the involvement of other factors in its pathogenesis. The aim of the study was to estimate the correlation between the night secretion of the serotonin and melatonin and the degree of sleep disorders. There were 60 patients with liver cirrhosis and 30 healthy subjects (control group) included in the study. Compared to the control group, in the first stage of hepatic encephalopathy (according to West Haven Scale) at 2 o'clock a.m. a low serum melatonin level was observed (57.5 ± 10.2 pg/mL and 41.2 ± 9.4 pg/mL, $p < 0.05$) and even lower concentration of serotonin (171.2 ± 45.0 and 108.4 ± 29.3 μ g/mL, $p < 0.01$). These results negatively correlated with the degree of sleep disorders. The obtained results indicate that in patients with liver cirrhosis the changes in the homeostasis of both serotonin and melatonin occur, which can cause sleep disorders.

Key words: cirrhosis, encephalopathy, serotonin, melatonin, sleep disorder

Wstęp

U osób z marskością wątroby, szczególnie w okresie jej niewydolności czynnościowej, występują nie tylko zmiany somatyczne, ale także zaburzenia nastroju i snu. W zaawansowanych stadiach choroby rozwija się encefalopatia wątrobowa, do objawów której należą m. in. bezsenność nocna oraz znużenie i apatia w ciągu dnia. Dokładne przyczyny encefalopatii nie zostały poznane, ale ważną rolę w jej patogenezie odgrywa niewydolność komórek wątrobowych, które nie są w stanie metabolizować licznych związków powstających w organizmie w przebiegu różnych procesów metabolicznych [1]. W tych warunkach substancje toksyczne transportowane są do różnych narządów, w tym do mózgu, zaburzając jego funkcjonowanie. Wśród substancji odgrywających istotną rolę w patogenezie encefalopatii najczęściej wymienia się amoniak, który zaburza procesy enzymatyczne tkanki mózgowej, hamuje aktywność acetylocholino i dopaminy oraz nasila powstawanie fałszywych neuroprzebieżników [2]. Wśród innych czynników wymienia się nadmiar metioniny i jej pochodnych oraz innych aminokwasów aromatycznych (fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan). Pod ich wpływem w tkance mózgowej zmniejsza się synteza fizjologicznych neuroprzebieżników a gromadzą się tzw. fałszywe neuroprzebieżniki, które w synapsach nerwowych podstawiane są w miejsce np. noradrenaliny i dopaminy, wyzwalając różnorodne objawy

psychosomatyczne [3]. Do czynników mających duży wpływ na struktury mózgu i ich funkcje zalicza się także serotoninę i melatoninę.

Synteza serotoniny zachodzi w przewodzie pokarmowym, ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym oraz w komórkach układu immunologicznego [4]. Największym jej źródłem są komórki enterochromatofilne w przewodzie pokarmowym (około 90%). Serotonina po przejściu do przestrzeni pozakomórkowej ulega wychwytowi zwrotnemu i w enterocytach jest metabolizowana, głównie do kwasu 5-hydroksyindoloocetowego. Część serotoniny jest metabolizowana w wątrobie i w ośrodkowym układzie nerwowym [5, 6].

Melatonina wydzielana jest przez komórki szyszynki, a także przez komórki enterochromatofilne przewodu pokarmowego. Obie frakcje metabolizowane są przede wszystkim w wątrobie, a ich głównym metabolitem jest siarczan 6-hydroksymelatoniny [7]. Melatonina w szyszynce wydzielana jest w rytmie dobowym a szczyt jej sekrecji przypada na godziny nocne (godz. 2:00-3:00). Wysokie stężenie melatoniny w nocy, u osób zdrowych, zapewnia spokojny, fizjologiczny sen. Z tych powodów melatoninę zaleca się głównie w celu pogłębienia snu [8-11]. Nie jest jasne dlaczego u osób z niewydolnością wątroby występują zaburzenia snu i jaka jest rola obu neuromodulatorów w tym zakresie.

Celem pracy była ocena jakości snu u osób z niewydolnością wątroby oraz związku pomiędzy zaburzeniami snu a stężeniem serotoniny i melatoniny we krwi w godzinach nocnych.

Materiał i metody

Do badań włączono 60 chorych z alkoholową marskością wątroby w stopniu niewydolności B i C wg klasyfikacji Child-Pough [12] oraz 30 osób zdrowych (grupa I - kontrolna). Wśród chorych wyodrębniono dwie 30-to osobowe grupy, tj. z encefalopatią pierwszego stopnia wg klasyfikacji West Haven i aktualnie bez objawów nadciśnienia wrotnego (grupa II) oraz z encefalopatią drugiego stopnia, wodobrzuszem, żylakami przełyku II-IV^o (grupa III). Rozpoznanie oparto na badaniach środowiskowych, endoskopowych, obrazowych i laboratoryjnych. W tym celu wielokrotnie wykonywano badania rutynowe - morfologię krwi i oznaczano stężenie we krwi następujących parametrów biochemicznych: bilirubiny, aminotransferazy

asparaginianowej i alaninowej, fosfatazy zasadowej, gamma-glutamylotranspeptydazy, glukozy, cholesterolu, mocznika, kreatyniny, amoniaku, protrombiny oraz wykonywano proteinogram. Z badań wykluczono osoby z innymi chorobami organicznymi i metabolicznymi oraz zakażonych wirusami HBV i HCV.

U wszystkich badanych oceniano jakość snu wg ISI (ang. *Insomnia Severity Index*) w modyfikacji własnej, tj. punkty dotyczące oceny jakości życia (0-4) zastąpiono 4-punktową oceną czasu trwania snu. Na 3 dni przed badaniami wszystkim chorym zalecono jednakową dietę lekkostrawną, a w dniu badania posiłek standardowy, tj. 3x400 mL Nutridrink (Nutricia) i 1500 mL wody mineralnej oraz pozostawanie w łóżku w godzinach 22:00-2:00 przy zgaszonym świetle. Krew do badania pobierano z żyły odłokciowej o godzinie 2:00 i po odwirowaniu surowicę przechowywano w temperaturze -70°C . Stężenie serotoniny i melatoniny w surowicy oznaczano metodą immunoenzymatyczną przy użyciu zestawu przeciwciał firmy LBL (Hamburg, Germany) - numer katalogowy odpowiednio RE 59121 i RE 59021.

Na badania uzyskano pisemną zgodę wszystkich osób oraz akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr RNN/180/14/KB). Badania przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską i zasadami dobrej praktyki klinicznej (GCP).

Do porównania stężeń serotoniny i melatoniny między grupami zastosowano testy Kruskala-Wallisa i Manna-Whitneya, zaś współzależność badanych parametrów oceniano określając współczynnik korelacji (r) Pearsona. Weryfikację istotności różnic przeprowadzono na poziomie $p=0,05$, $p=0,01$, $p=0,001$. Do obliczeń wykorzystano pakiet Statistica 9.1.

Wyniki

Ogólną charakterystykę badanych osób przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka ogólna pacjentów włączonych do badań.
Table 1. General characteristics of patients enrolled in the study.

Parametr	Grupa I ($\bar{x} \pm SD$)	Grupa II	Grupa III
Wiek (lata)	43,4 ± 6,9	43,2 ± 7,9	48,4 ± 10,6
Płeć (F, M)	F-11, M-19	F-12, M-18	F-9, M-21
Bilirubina (mg/dL)	0,7 ± 0,2	9,1 ± 7,0	8,9 ± 7,3
Amoniak (mg/dL)	30,6 ± 8,7	86,9 ± 23,5	92,0 ± 19,8
Albuminy (g/dL)	5,45 ± 0,69	3,3 ± 1,80	3,2 ± 1,63
AST (U/L)	20,4 ± 4,9	69,5 ± 61,3	70,3 ± 60,6
ALT (U/L)	23,0 ± 5,4	112,3 ± 88,4	99,1 ± 82,3
GGTP (U/L)	26,3 ± 6,3	104,8 ± 85,3	123,0 ± 94,5
ALP (U/L)	36,8 ± 9,9	55,3 ± 29,2	61,4 ± 36,3

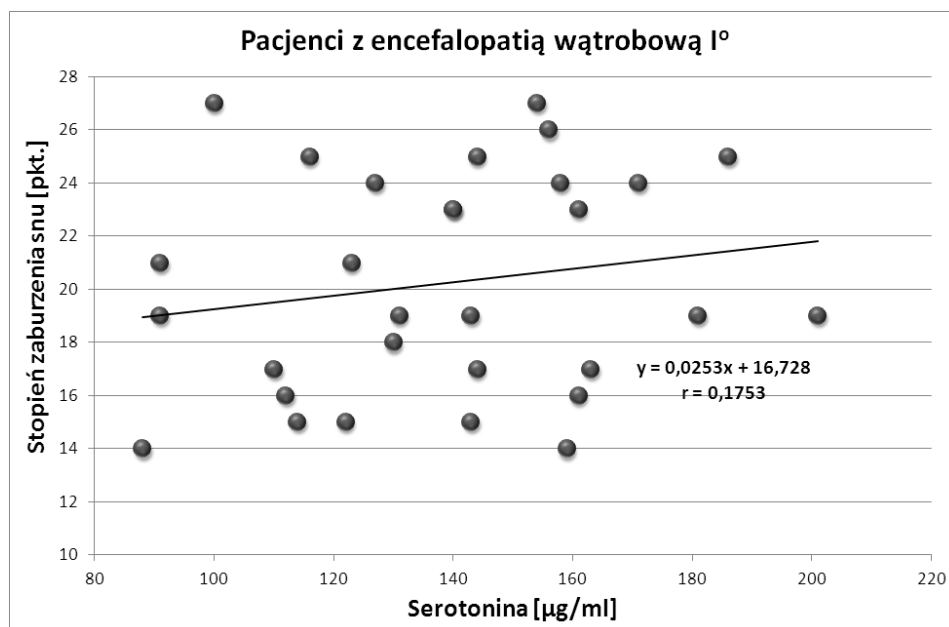
grupa I - osoby klinicznie zdrowe (ang. *healthy subjects*)

grupa II - osoby z marskością wątroby bez nadciśnienia wrotnego (ang. *subjects with liver cirrhosis without portal hypertension*)

grupa III - osoby z marskością wątroby i z nadciśnieniem wrotnym (ang. *subjects with liver cirrhosis and portal hypertension*)

AST – aminotransferaza asparaginianowa; ALT – aminotransferaza alaninowa; GGTP – gamma-glutamylotranspeptydaza; ALP – fosfataza zasadowa

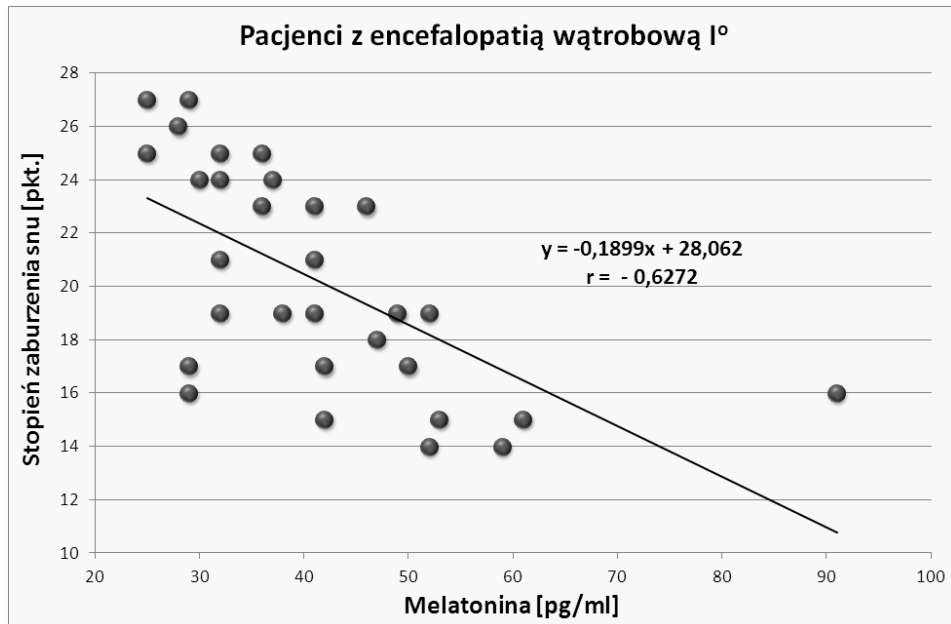
W grupach II i III, tj. u osób z marskością wątroby, średnie nocne stężenie serotoniny w surowicy było niższe niż w grupie kontrolnej i wynosiło odpowiednio: 171,2±45,0 µg/mL, 138,6±38,5 µg/mL ($p < 0,05$) i 108,4±29,3 µg/mL ($p < 0,01$). Różnice występowały również w stężeniu melatoniny, a wyniki wynosiły odpowiednio w grupie I, II, III: 57,5±10,2 pg/mL, 41,2 ±9,4 pg/mL ($p < 0,05$) i 83,4 ±21,6 pg/mL ($p < 0,01$).



Ryc.1. Zależność między stężeniem serotoniny w surowicy i stopniem zaburzenia snu u pacjentów z encefalopatią wątrobową I°; $p > 0,05$.

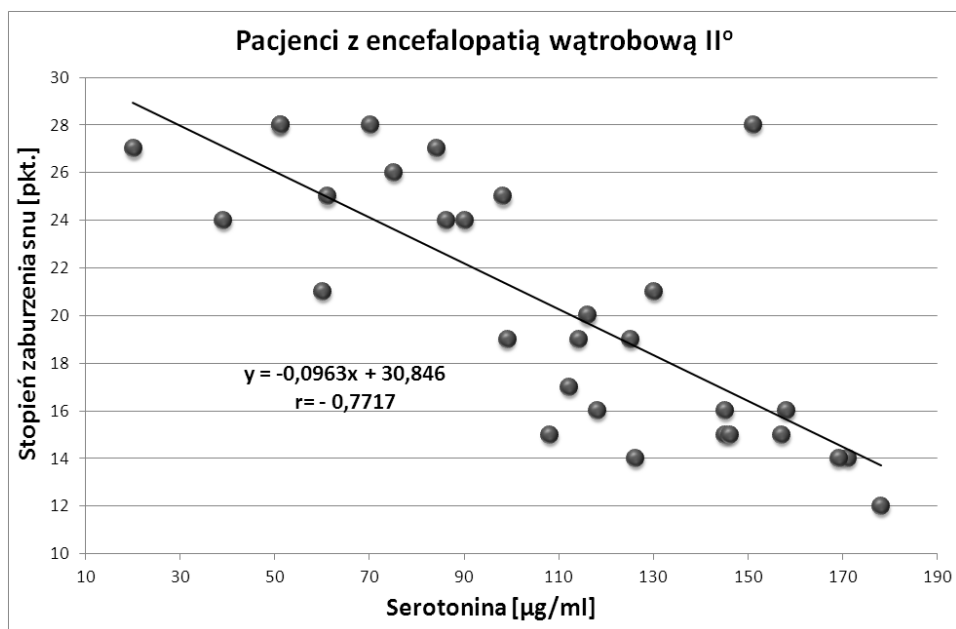
Fig. 1. Dependency between the serum level of serotonin and the degree of sleep disturbances in patients with hepatic encephalopathy I°; $p > 0.05$.

W grupie osób zdrowych nie występowały istotne zaburzenia snu - średnio $4,83 \pm 0,6$ pkt. Natomiast w grupie 2 i 3 wskaźnik ten był wyraźnie wyższy i wynosił odpowiednio $20,2 \pm 4,3$ pkt i $20,4 \pm 4,1$ pkt ($p < 0,001$). W grupie II stwierdzono ujemną korelację tylko między stężeniem melatoniny a stopniem zaburzenia snu ($r = -0,6272$; $p < 0,05$, ryc. 1 i ryc. 2), a w grupie III ujemna korelacja zachodziła tylko między nasileniem zaburzeń snu a stężeniem serotoniny ($r = -0,7717$; $p < 0,01$; ryc. 3 i ryc. 4).



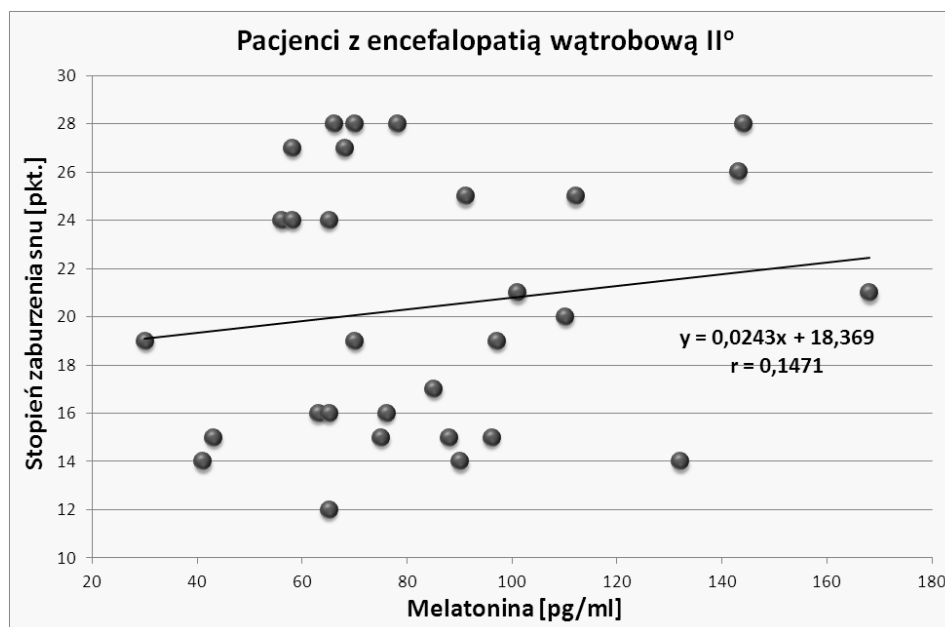
Ryc. 2. Zależność między stężeniem melatoniny w surowicy i stopniem zaburzenia snu u pacjentów z encefalopatią wątrobową I°; $p < 0,05$.

Fig. 2. Correlation between the serum melatonin level and the degree of sleep disturbances in patients with hepatic encephalopathy I°; $p < 0,05$.



Ryc. 3. Zależność między stężeniem serotoniny w surowicy i stopniem zaburzenia snu u pacjentów z encefalopatią wątrobową II°; $p < 0,01$.

Fig. 3. Correlation between the serum serotonin level and the degree of sleep disturbances in patients with hepatic encephalopathy II°; $p < 0,01$.



Ryc. 4. Zależność między stężeniem melatoniny w surowicy i stopniem zaburzenia snu u pacjentów z encefalopatią wątrobową II°; $p > 0,05$.

Fig. 4. Dependency between the serum level of melatonin and the degree of sleep disturbances in patients with hepatic encephalopathy II°; $p > 0,05$.

Dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno stężenie serotoniny, jak i melatoniny we krwi obwodowej zależy od zaawansowania niewydolności wątroby. W wielu doniesieniach wskazywano na zmianę rytmu dobowego wydzielania melatoniny przez szyszynkę u osób z marskością wątroby, charakteryzującą się przesunięciem jej wydzielania z godzin nocnych na ranne [13-15]. Wsunięto wniosek, że wyższe stężenie amoniaku we krwi działa toksycznie na struktury OUN, w tym na szyszynkę, zmieniając rytm wydzielania melatoniny [17-18]. Opinię tę potwierdzają wyniki badań doświadczalnych, w których zmianę wydzielania melatoniny wyzwalano poprzez wytworzenie zespolenia wrotno-wątrobowego [20, 21], a także doświadczenia kliniczne wskazujące na poprawę rytmu wydzielania tego hormonu po transplantacji wątroby [22]. W badaniach własnych nie stwierdzono istotnych różnic

w nocnym wydzielaniu melatoniny w grupie osób zdrowych i w grupie osób z zaawansowaną niewydolnością wątroby [23, 24]. Ponadto u chorych z nadciśnieniem wrotnym stężenia te u wielu były wyższe niż u osób zdrowych. Może to wynikać z niewydolności metabolicznej wątroby, ale także z przecieku melatoniny enteralnej z krążenia wrotnego do systemowego. Wobec niskiego stężenia melatoniny w godzinach nocnych, przyczyn zaburzeń snu należy upatrywać także wśród innych czynników [25]. Jednym z nich może być zaburzona homeostaza serotoniny, odmienna w różnych stadiach niewydolności wątroby [26, 27]. We wstępnym okresie choroby jej stężenie we krwi nie uległo istotnej zmianie, natomiast było obniżone w skrajnej niewydolności wątroby z nadciśnieniem wrotnym. Zaburzeniom tym towarzyszyło pogorszenie nastroju, co może być wynikiem niedoboru tego neuroprzekaźnika w organizmie.

Serotonina posiada wiele właściwości: działa jako neuroprzekaźnik oraz jako hormon endokrynnny i parakrynnny [30]. Niedobór serotoniny występuje w wielu stanach chorobowych, ale przyczyny tego zjawiska nie są dokładnie poznane. Przypuszcza się m. in., że podwyższone stężenie glikokortykosteroidów, będące następstwem przewlekłego stresu psychicznego lub biologicznego, aktywuje pirołazę wątrobową, która zamiast metabolizować tryptofan do serotoniny powoduje powstawanie z niego kinureininy i jej pochodnych [31, 32], Proces taki zachodzi również w ośrodkowym układzie nerwowym, co może być jedną z przyczyn zaburzeń procesów regulacji snu i nastroju u chorych z marskością wątroby [33, 34]

Te złożone zaburzenia homeostazy serotoniny i melatoniny mogą wpływać na obraz kliniczny marskości wątroby, w tym na zaburzenia snu i nastroju.

Piśmiennictwo

1. Butterworth RF. Hepatic encephalopathy. *Alcohol Res Health*. 2003; 27(3): 240-246.
2. Bergeron M, Swain MS, Reader TA, Grondin L, Butterworth RF. Effect of ammonia on brain serotonin metabolism in relation to function in the portacaval shunted rat. *J Neurochem*. 1990; 55(1): 222-229.
3. Weissenborn K, Bokemeyer M, Krause J, Ennen J, Ahl B. Neurological and neuropsychiatric syndromes associated with liver disease. *AIDS*. 2005; 19 (Suppl 3): S93-98.
4. Walther DJ, Bader M. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem Pharmacol*. 2003; 66(9): 1673-1680.

5. Gershon MD. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013; 20(1): 14-21.
6. Cools R, Roberts AC, Robbins TW. Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes. *Trends Cogn Sci.* 2008; 12(1): 31-40.
7. Karasek M, Winczyk K. Melatonin in humans. *J Physiol Pharmacol.* 2006; 57 Suppl 5: 19-39.
8. Rodenbeck A, Huether G, Rüther E, Hajak G. Nocturnal melatonin secretion and its modification by treatment in patients with sleep disorders. *Adv Exp Med Biol.* 1999; 467: 89-93.
9. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Trahkt I, Spence DW, Poeggeler B, Hardeland R i wsp. Melatonin and melatonergic drugs on sleep: possible mechanisms of action. *Int J Neurosci.* 2009; 119(6): 821-846.
10. van Geijlswijk IM, Korzilius HP, Smits MG. The use of exogenous melatonin in delayed sleep phase disorder: a meta-analysis. *Sleep.* 2010;33(12):1605-1614.
11. Kunz D, Mahlberg R. A two-part, double-blind, placebo-controlled trial of exogenous melatonin in REM sleep behaviour disorder. *J Sleep Res.* 2010; 19(4): 591-596.
12. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy-definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology.* 2002; 35(3): 716-721.
13. Córdoba J, Cabrera J, Lataif L, Penev P, Zee P, Blei AT. High prevalence of sleep disturbance in cirrhosis. *Hepatology.* 1998; 27(2): 339-345.
14. Montagnese S, Middleton B, Mani AR, Skene DJ, Morgan MY. Sleep and circadian abnormalities in patients with cirrhosis: features of delayed sleep phase syndrome? *Metab Brain Dis.* 2009; 24(3): 427-439.
15. Montagnese S, De Pittà C, De Rui M, Corrias M, Turco M, Merkel C i wsp. Sleep-wake abnormalities in patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2014; 59(2): 705-712.
16. Ardizzi A, Grugni G, Saglietti G, Morabito F. Circadian rhythm of melatonin in liver cirrhosis. *Minerva Med.* 1998;89(1-2):1-4.
17. Velissaris D, Karamouzos V, Polychronopoulos P, Karanikolas M. Chronotypology and melatonin alterations in minimal hepatic encephalopathy. *J Circadian Rhythms.* 2009; 29; 7: 6.
18. Steindl PE, Finn B, Bendok B, Rothke S, Zee PC, Blei AT. Disruption of the diurnal rhythm of plasma melatonin in cirrhosis. *Ann Intern Med.* 1995; 123(4): 274-277.
19. Steindl PE, Finn B, Bendok B, Rothke S, Zee PC, Blei AT. Changes in the 24-hour rhythm of plasma melatonin in patients with liver cirrhosis-relation to sleep architecture]. *Wien Klin Wochenschr.* 1997; 109(18): 741-746.
20. Coy DL, Mehta R, Zee P, Salchli F, Turek FW, Blei AT. Portal-systemic shunting and the disruption of circadian locomotor activity in the rat. *Gastroenterology.* 1992; 103(1): 222-228.

21. Zee PC, Mehta R, Turek FW, Blei AT. Portacaval anastomosis disrupts circadian locomotor activity and pineal melatonin rhythms in rats. *Brain Res.* 1991; 560(1-2): 17-22.
22. Cordoba J, Steindl P, Blei AT. Melatonin arrhythmia is corrected after liver transplantation. *Am J Gastroenterol.* 2009; 104(7): 1862-1863.
23. Chojnacki C, Romanowski M, Winczyk K, Błasiak J, Chojnacki J. Melatonin levels in serum and ascitic fluid of patients with hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Res Pract* doi.10.1155/2012/510764.
24. Chojnacki C, Wachowska-Kelly P, Błasiak J, Reiter RJ, Chojnacki J. Melatonin secretion and metabolism in patients with hepatic encephalopathy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013; 28(2): 342-347.
25. Mostacci B, Ferlisi M, Baldi Antognini A, Sama C, Morelli C, Mondini S i wsp. Sleep disturbance and daytime sleepiness in patients with cirrhosis: a case control study. *Neurol Sci.* 2008; 29(4): 237-240.
26. Chojnacki C, Walecka-Kapica E, Klupińska G, Wachowska-Kelly P, Żylińska K, Winczyk K i wsp. Serotonin and melatonin secretion and metabolism in patients with liver cirrhosis. *Pol Arch Med Wewn.* 2012; 122(9): 392-397.
27. Chojnacki C, Walecka-Kapica E, Stepień A, Pawłowicz M, Wachowska-Kelly P, Chojnacki J. Serum and ascitic fluid serotonin levels and 5-hydroxyindoleacetic acid urine excretion in the liver of cirrhotic patients with encephalopathy. *Adv Med Sci.* 2013; 58(2): 251-256.
28. Sarrias MJ, Artigas F, Martínez E, Gelpi E. Seasonal changes of plasma serotonin and related parameters: correlation with environmental measures. *Biol Psychiatry.* 1989; 26(7): 695-706.
29. Shabbir F, Patel A, Mattison C, Bose S, Krishnamohan R, Sweeney E i wsp. Effect of diet on serotonergic neurotransmission in depression. *Neurochem Int.* 2013; 62(3): 324-329.
30. Gershon MD. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013; 20(1): 14-21.
31. Saleem DM, Haider S, Khan MM, Shamsi T, Haleem DJ. Role of tryptophan in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *J Pak Med Assoc.* 2008; 58(2): 68-70.
32. Miura H, Ozaki N, Sawada M, Isobe K, Ohta T, Nagatsu T. A link between stress and depression: shifts in the balance between the kynurenine and serotonin pathways of tryptophan metabolism and the etiology and pathophysiology of depression. *Stress.* 2008; 11(3): 198-209.
33. Stone TW, Darlington LG. The kynurenine pathway as a therapeutic target in cognitive and neurodegenerative disorders. *Br J Pharmacol.* 2013; 169(6): 1211-1227.
34. Dantzer R, O'Connor JC, Lawson MA, Kelley KW. Inflammation-associated depression: from serotonin to kynurenine. *Psychoneuroendocrinology.* 2011; 36(3): 426-436.