

La miocardiopatía hipertrófica induce cambios en la expresión de la triptófano-5-hidroxilasa, el transportador de serotonina y receptores serotoninérgicos

Gabriel Manjarrez-Gutiérrez,^{1,2*} Guillermo Valero-Elizondo,² Yesenia Serrano-Hernández,³ José Antonio Mondragón-Herrera³ y Armando Mansilla-Olivares³

¹Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades; ²Departamento de Patología, Hospital de Cardiología; ³Laboratorio de Patología Molecular, Unidad de Investigación Biomolecular, Hospital de Cardiología. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, México

Resumen

Introducción: Los cardiomiocitos poseen la maquinaria bioquímica capaz de sintetizar, utilizar y recapturar serotonina. **Objetivo:** Determinar si la miocardiopatía hipertrófica (MCH) induce cambios en la expresión de la triptófano-5-hidroxilasa (TPH) 1 y 2, el transportador de serotonina (SERT) y los receptores serotoninérgicos (RS). **Métodos:** Estudio transversal de cinco bloques de tejido de corazones con MCH y cinco bloques de corazones de control. Se obtuvieron cinco cortes de la pared libre del ventrículo izquierdo (PLVI) y del septum interventricular (SIV) de cada bloque, para determinar la expresión de TPH1 y TPH2, SERT y RS con anticuerpos por inmunofluorescencia. La inmunofluorescencia fue evaluada mediante *t* de WELCH, con nivel de significación de $p < 0.05$. **Resultados:** La PLVI y el SIV de los corazones con MCH mostraron aumento de la expresión de TPH1 y TPH2, así como de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en comparación con los controles ($p < 0.01$). El receptor 5-HT₄ y SERT aumentaron en el SIV de los corazones con MCH ($p < 0.01$). **Conclusiones:** Se demostró aumento de las expresiones de TPH, SERT y RS en los cardiomiocitos de los corazones con MCH en comparación con los controles, lo cual podría participar en la fisiopatología de la MCH en los humanos.

PALABRAS CLAVE: Cardiomiocitos. Miocardiopatía hipertrófica. Receptores serotoninérgicos. Serotonina. SERT. Triptófano-5-hidroxilasa.

Hypertrophic cardiomyopathy induces changes in the tryptophan-5-hydroxylase, serotonin transporter and serotonergic receptors expressions

Abstract

Introduction: Cardiomyocytes have a biochemical machinery with the capacity to synthesize, utilize and reuptake serotonin. **Objective:** To determine whether hypertrophic cardiomyopathy (HCM) induces changes in the expression of tryptophan-5-hydroxylase (TPH) 1 and 2, serotonin transporter (SERT) and serotonergic receptors (SR). **Methods:** Cross-sectional study of five tissue blocks from hearts with HCM and five controls. Five sections of the left ventricular free wall (LVFW) and interventricular septum (IVS) were obtained from each block to determine the expression of TPH1 and TPH2, SERT and SRs by immunofluorescence with specific antibodies. Immunofluorescence was evaluated by WELCH *t*-test, with a level of significance of $p < 0.05$. **Results:** LVFW and IVS of hearts with HCM showed an increase in the expression of TPH1 and TPH 2 and 5-HT_{2A}

*Correspondencia:

Gabriel Manjarrez-Gutiérrez
E-mail: gmanjarrezg@gmail.com

Fecha de recepción: 15-06-2022

Fecha de aceptación: 26-07-2022

DOI: 10.24875/GMM.22000199

Gac Med Mex. 2022;158:395-401

Disponible en PubMed

www.gacetamedicademexico.com

0016-3813/© 2022 Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

and 5-HT_{2B} receptors in comparison with controls ($p < 0.01$). The 5-HT₄ receptor and SERT showed an increase in the IVS of hearts with HCM ($p < 0.01$). **Conclusions:** This study demonstrated an increased expression of TPH, SERT and SRs in cardiomyocytes from hearts with HCM in comparison with controls, which could be involved in the pathophysiology of HCM in humans.

KEYWORDS: Cardiomyocytes. Hypertrophic cardiomyopathy. Serotonergic receptors. Serotonin. SERT. Tryptophan-5-hydroxylase.

Introducción

En el organismo existen dos compartimientos de la 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina): cerebral y periférica.^{1,2} La 5-HT cerebral representa alrededor de 5 % del total del cuerpo, actúa como factor trófico, neuromodulador y neurotransmisor.^{1,3} El 95 % restante se produce en los órganos periféricos, la mayoría en las células enterocromafines del intestino; puede actuar localmente o ingresar a la circulación sanguínea.^{4,5} En la sangre, la 5-HT es captada y almacenada por las plaquetas,⁶ 2 % está libre en el plasma y puede actuar como una hormona.^{7,8}

La 5-HT participa en la fisiología cardiovascular a través de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT₃, 5-HT₄ y 5-HT₇ ubicados en los cardiomiocitos o en las terminales nerviosas.⁹⁻¹³ Los cardiomiocitos capturan 5-HT a través del transportador de membrana celular (SERT),^{14,15} que participa en la remodelación y desarrollo del corazón.¹¹ SERT no se expresa en el miocardio adulto y solo persiste en las válvulas cardíacas.¹⁴ El receptor 5-HT_{1B} regula las resistencias periféricas¹² y la actividad fibroblástica del miocardio.¹⁶ El receptor 5-HT_{2A} produce vasoconstricción aórtica;¹⁷ además, ejerce efecto cronotrópico e inotrópico positivo.^{18,19} El receptor 5-HT_{2B} se ha asociado a mitogénesis fibroblástica y fibrosis subendocárdica²⁰⁻²² e interviene en los mecanismos de hipertrofia ventricular.²³

Recientemente, se ha demostrado la presencia de la triptófano-5-hidroxilasa (TPH) 1 y 2, SERT y receptores 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en corazones de pacientes que fallecieron por causas ajenas a enfermedad cardiovascular,¹⁰ así como en corazones de ratas normales⁹ y con miocardiopatía diabética.²⁴ Estos resultados apoyan la presencia de un sistema serotoninérgico intrínseco que participa en la fisiología del corazón en los seres humanos.

Tomando en cuenta todos estos hallazgos, nos planteamos si la miocardiopatía hipertrófica induce cambios en las expresiones de TPH1, TPH2, SERT y receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en los cardiomiocitos de la

pared libre del ventrículo izquierdo (PLVI) y del septum interventricular (SIV) en comparación con corazones que sirvieron de control.

Métodos

Se realizó un estudio transversal comparativo en cinco bloques de tejido de corazones de pacientes fallecidos por miocardiopatía hipertrófica (MCH) y cinco bloques de corazones de pacientes fallecidos por causas ajenas a enfermedad cardiovascular. Las muestras fueron obtenidas de los archivos de patología del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, y del Hospital General de México, Secretaría de Salud. Se obtuvieron cinco cortes de la PLVI y del SIV de cada uno de los bloques de cada grupo, para determinar las expresiones de TPH1, TPH2, SERT y receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ por inmunofluorescencia con anticuerpos específicos para cada molécula; para la observación y cuantificación se utilizó un microscopio confocal invertido Nikon Ti Eclipse equipado con un sistema de imágenes AI, ambos controlados con el programa NIS Elements v.5.50.

Para comparar las expresiones de TPH, SERT y receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en la PLVI y el SIV de ambos grupos, se obtuvieron primero las intensidades de fluorescencia de cada molécula, después se determinaron los promedios y los errores estándar de la media. Posteriormente, fueron normalizadas y, finalmente, los grupos fueron contrastados mediante t de WELCH, con un nivel de significación de $p < 0.05$.

Resultados

La expresión de TPH1 y TPH2 en la PLVI y el SIV de ambos grupos se muestran en las Figuras 1 y 2. Como se puede ver en las Figuras 1B y 2B, se observó un aumento de la expresión de TPH1 y TPH2 en ambas estructuras en los corazones con MCH en comparación con los controles ($p < 0.01$).

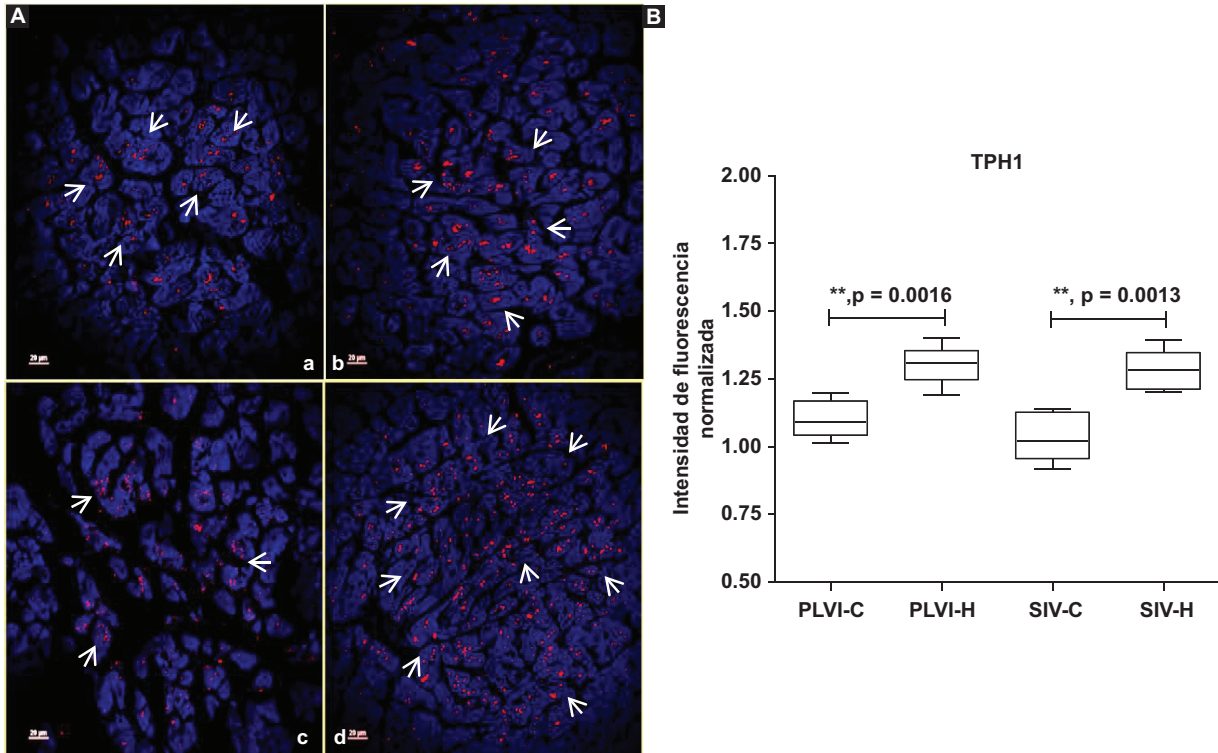


Figura 1. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófico) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a TPH1. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

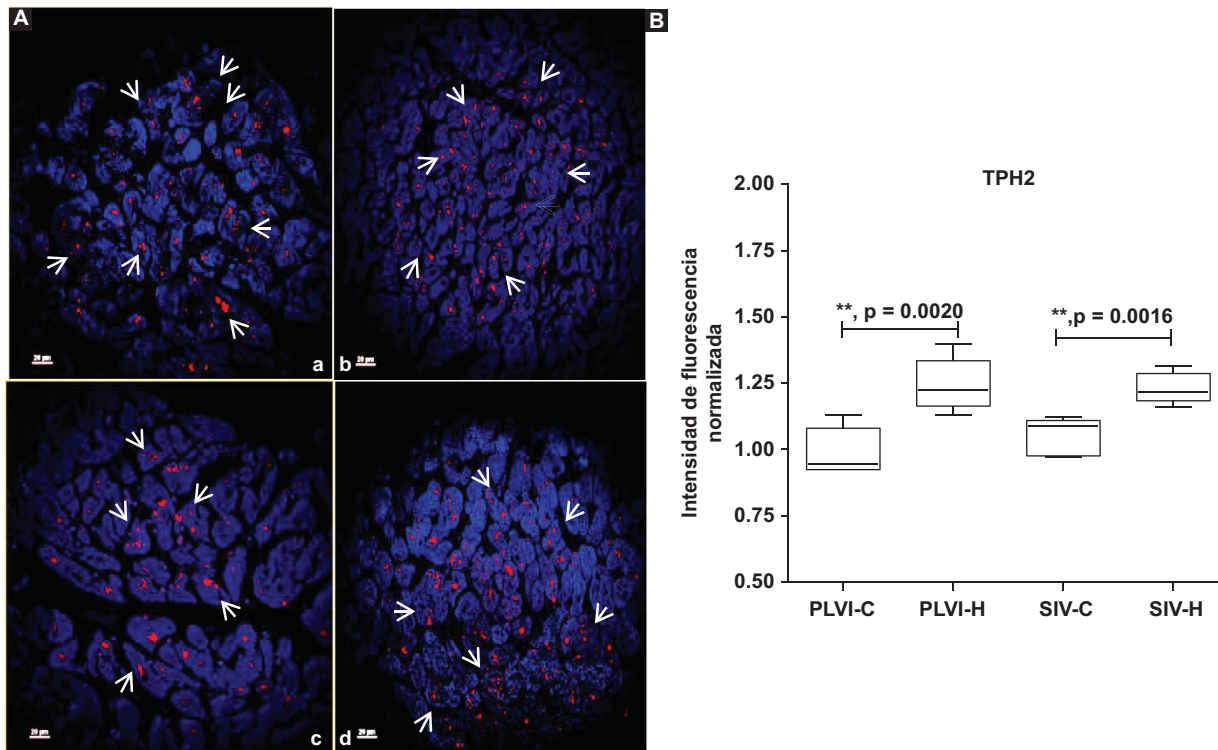


Figura 2. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófico) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a TPH2. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

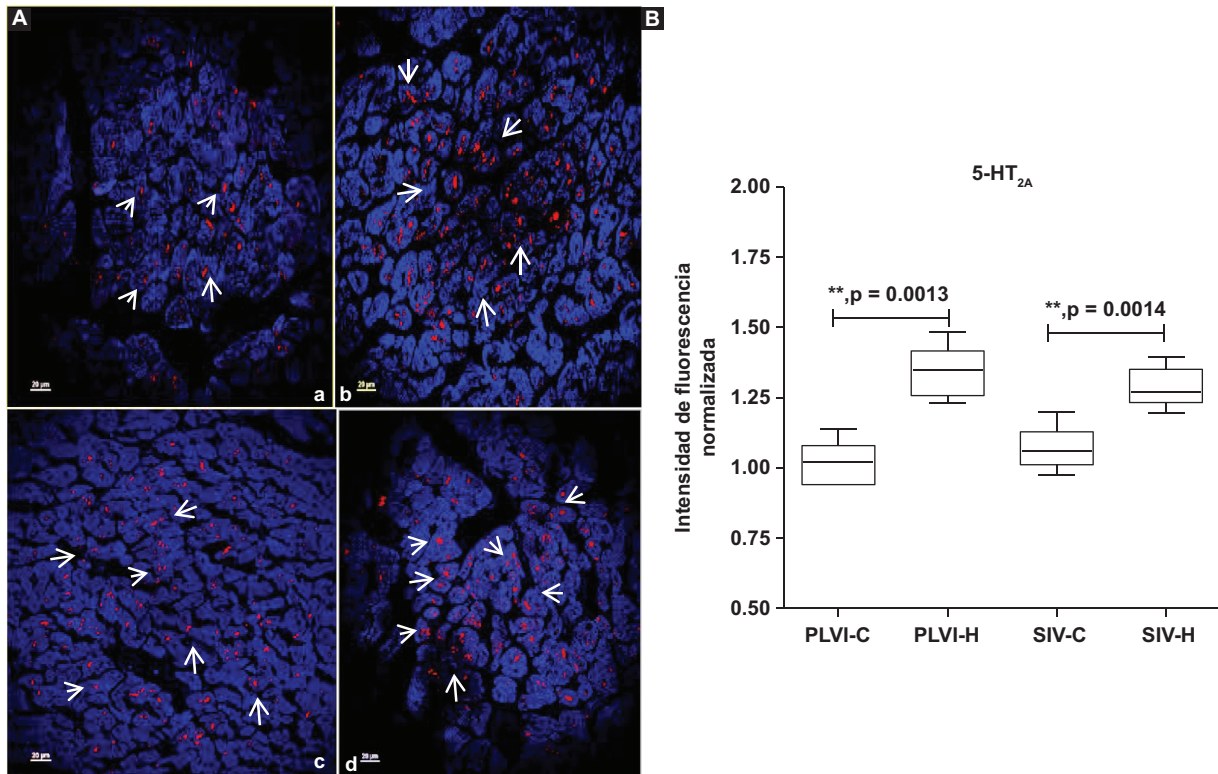


Figura 3. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófica) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT_{2A}. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

Las expresiones de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en la PLVI y SIV en ambos grupos se ilustran en las Figuras 3A y 4A. Ambos receptores se expresaron más en los corazones con MCH con relación con los de control (p < 0.01). La Figura 5A muestra la expresión del receptor 5-HT₄ en la PLVI y el SIV de ambos grupos. El SIV con MCH mostró un aumento en comparación con el control (p < 0.01). Sin embargo, la PLVI no mostró diferencias en la expresión de 5-HT₄ al compararla con la control.

Por otro lado, la Figura 6A muestra la expresión de SERT en la PLVI y el SIV de ambos grupos. Como se puede observar, SERT aumentó en el SIV de los corazones con MCH en comparación con los controles (Figura 6B), p < 0.01; sin embargo, la expresión de SERT en la PLVI no mostró diferencias (Figura 6B).

Discusión

En esta investigación, tanto la PLVI como el SIV de los corazones de control y con MCH expresaron TPH, SERT y receptores serotoninérgicos. Estos hallazgos confirman los reportados previamente^{9,10} y se hacen extensivos a corazones con MCH. La presencia de

TPH en los cardiomiocitos, cuya expresión fue mayor en los corazones con MCH, sugiere que probablemente estos cardiomiocitos son capaces de sintetizar suficiente 5-HT para modular la actividad ventricular durante la MCH.^{9,19,25}

También observamos un aumento en la expresión de 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en PLVI y SIV, y solo se demostró un incremento de 5-HT₄ en el SIV en los corazones hipertróficos. Estos hallazgos sugieren que estos receptores pueden participar en los mecanismos moleculares que inducen la hipertrofia miocárdica, dado que regulan el patrón trifásico de la respuesta inotrópica e incrementan la energía de contracción miocárdica ventricular.^{19,26} También se ha reportado que la sobreexpresión de 5-HT_{2B} produce hipertrofia cardíaca compensada, aspecto que ha sido demostrado en un modelo experimental de la sobreexpresión del receptor 5-HT_{2B}.²² Por lo tanto, el incremento de la expresión de 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en los cardiomiocitos de la PLVI y el SIV, así como de la expresión de SERT en el SIV de los corazones con MCH en comparación con los corazones de control, permiten plantear su posible participación en los mecanismos moleculares y de regulación de la

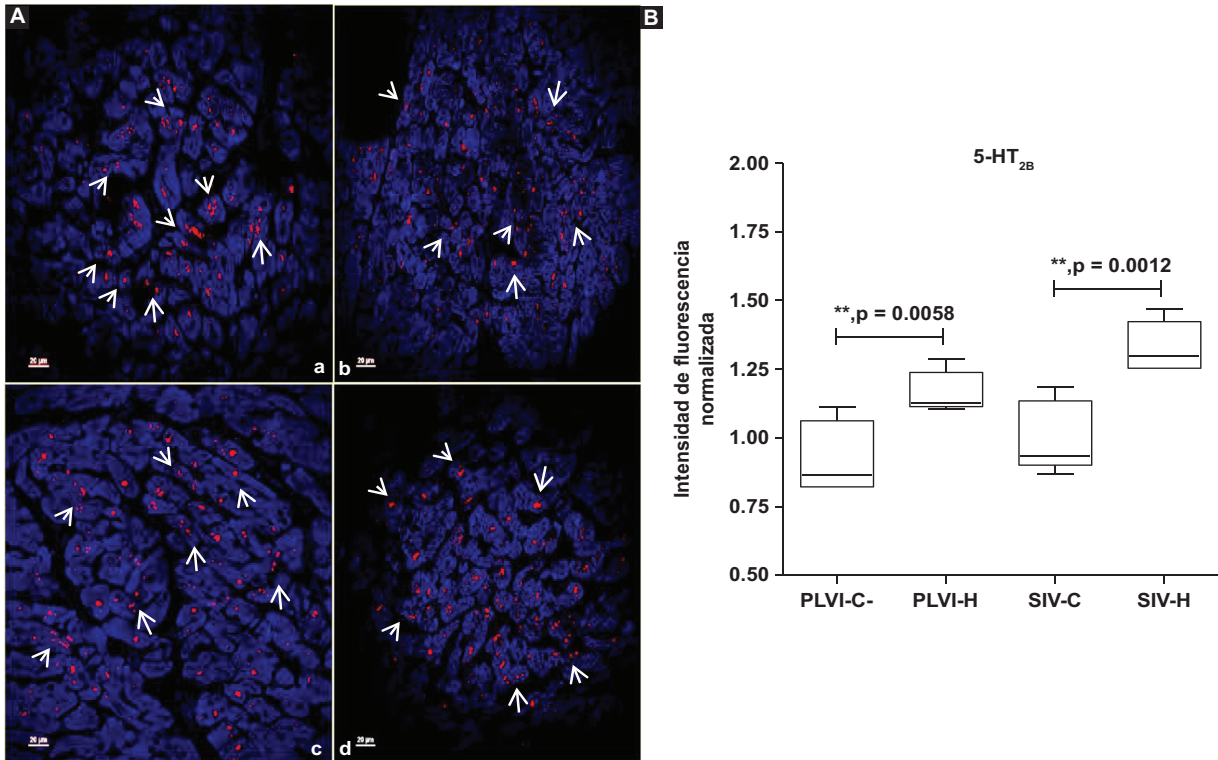


Figura 4. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófico) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT_{2B}. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

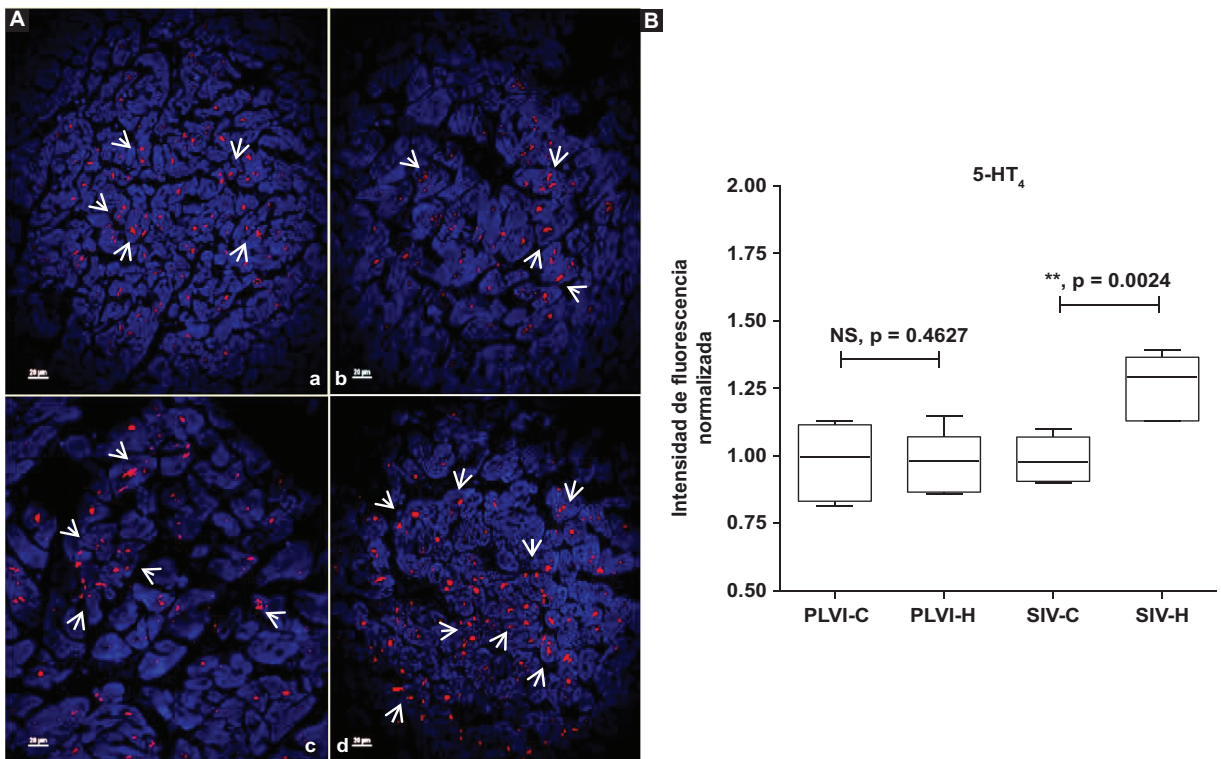


Figura 5. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófico) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT₄. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b, p = no significativa; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

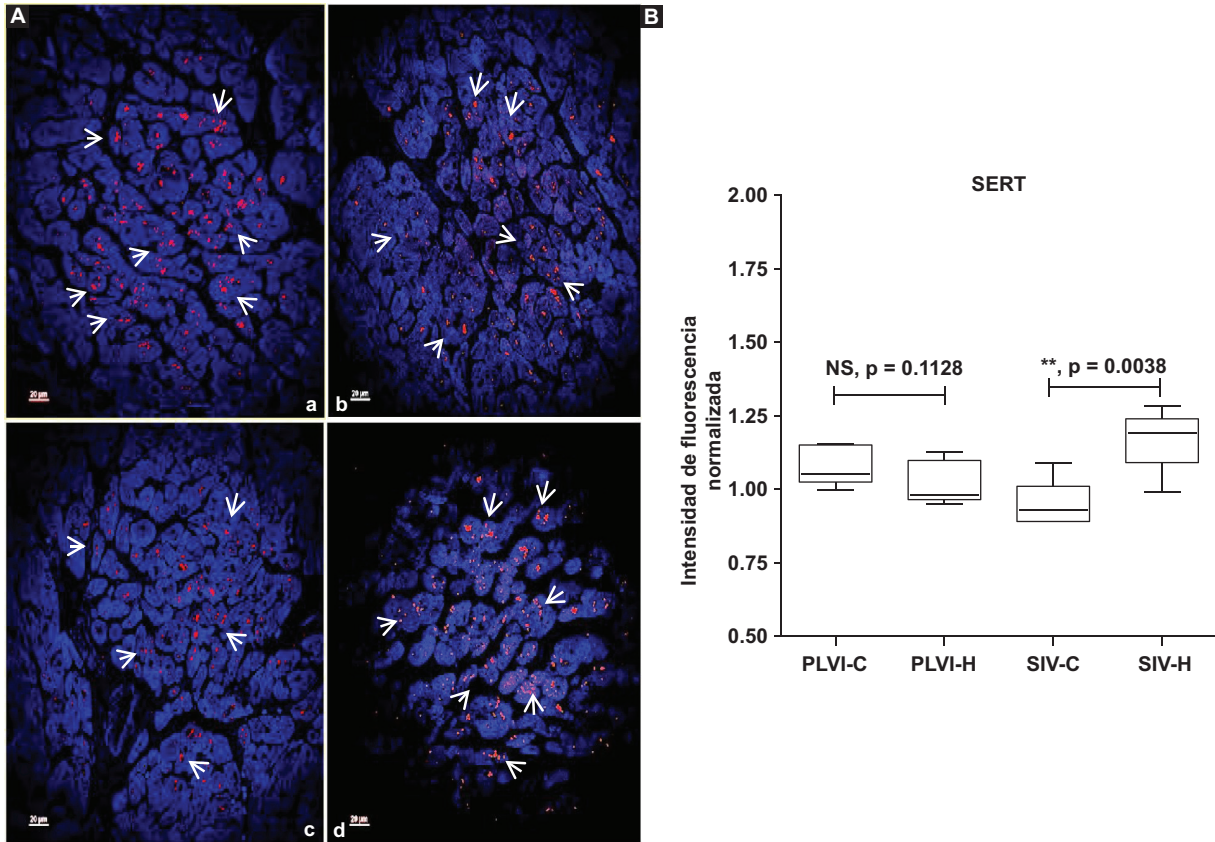


Figura 6. A: micrografías de la PLVI y el SIV (a, control; b, hipertrófica; c, control; d, hipertrófico) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a SERT. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, - 4 μm. **B:** intensidades de fluorescencia normalizadas de la PLVI y el SIV, cada caja corresponde a la media ± error estándar de la media de cinco determinaciones en cada estructura de cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo mediante t de WELCH. PLVI, a versus b, p = no significativa; SIV, c versus d, **p < 0.01. PLVI: pared libre del ventrículo izquierdo; SIV: septum interventricular.

serotonina en los cardiomiocitos durante el desarrollo de la MCH en los seres humanos.

Conclusiones

Los presentes resultados confirman que los corazones con MCH tienen un aumento significativo de la expresión de TPH, SERT y receptores serotoninérgicos en comparación con los corazones de control. Por lo tanto, estos hallazgos en conjunto permiten plantear su posible participación en los mecanismos fisiopatológicos que se presentan durante el desarrollo y evolución de la miocardiopatía hipertrófica en los seres humanos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la participación del doctor Vadim Pérez Koldenkova para la adquisición de las imágenes en el microscopio confocal del Laboratorio

Nacional de Microscopia Avanzada del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Financiamiento

Los autores declaran no haber recibido financiamiento para este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que siguieron los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

1. Boadle-Biber MC. Regulation of serotonin synthesis. *Prog Biophys Mol Biol.* 1993;60:1-15.
2. Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev.* 1992;72:165-229.
3. Masson J, Boris EM, Hamon M, Darmon M. Serotonergic signaling multiple effectors and pleiotropic effects. *WIREs Membr Transp Signal.* 2012;1:685-713.
4. O'Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG, Cryan JF. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behav Brain Res.* 2015;277:32-481.
5. Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil.* 2009;21:1239-1249.
6. Mercado CP, Kilic F. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. *Mol Interv.* 2010;10:231-241.
7. Berger M, Gray JA, Roth BL. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med.* 2009;60:355-366.
8. El-Merahbi R, Löffler M, Mayer A, Sumara G. The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Lett.* 2015;589:1728-1734.
9. Manjarrez-Gutiérrez G, Neri-Gómez T, Boyzo-Montes OA, Hernández-Rodríguez J. Characterization of an intrinsic serotonergic system in rat heart. *Glob Adv Res J Med Med Sci.* 2015;4:083-091.
10. Neri-Gómez T, Valero-Elizondo G, Mansilla-Olivares A, Mondragón-Herrera JA, Manjarrez-Gutiérrez G. Immunohistochemically characterization of serotonin reuptake transporter; 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} receptor, and tryptophan-5-hydroxylase expression in normal human hearts. *J Integr Cardiol.* 2018;4:1-5.
11. Nebigil CG, Maroteaux L. A novel role for serotonin in heart. *Trends Cardiovasc Med.* 2001;11:329-335.
12. Ramage AG, Villalón CM. 5-hydroxytryptamine and cardiovascular regulation. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29:472-481.
13. Ayme-Dietrich E, Aubertin-Kirch G, Maroteaux L, Monassier L. Cardiovascular remodeling and the peripheral serotonergic system. *Arch Cardiovasc Dis.* 2017;110:51-59.
14. Mekontso-Dessap A, Brouri F, Pascal O, Lechat P, Hanoun N, Lanfumey L, et al. Deficiency of the 5-hydroxytryptamine transporter gene leads to cardiac fibrosis and valvulopathy in mice. *Circulation.* 2006;113:81-89.
15. Noorlander CW, Ververs FF, Nikkels PG, van Echteld CJ, Visser GH, Smidt MP. Modulation of serotonin transporter function during fetal development causes dilated heart cardiomyopathy and lifelong behavioral abnormalities. *PLoS One.* 2008;3:e2782.
16. Seuwen K, Magnaldo I, Pouyssegur J. Serotonin stimulates DNA synthesis in fibroblasts acting through 5-HT_{1B} receptors coupled to a Gi-protein. *Nature.* 1988;335:254-256.
17. McKune CM, Watts SW. Characterization of the serotonin receptor mediating contraction in the mouse thoracic aorta and signal pathway coupling. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;297:88-95.
18. Brattelid T, Qvigstad E, Birkeland JA, Swift F, Bekkevold SV, Krobert KA, et al. Serotonin responsiveness through 5-HT_{2A} and 5-HT₄ receptors is differentially regulated in hypertrophic and failing rat cardiac ventricle. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43:767-779.
19. Qvigstad E, Sjaastad I, Brattelid T, Nunn C, Swift F, Birkeland JA, et al. Dual serotonergic regulation of ventricular contractile force through 5-HT_{2A} and 5-HT₄ receptors induced in the acute failing heart. *Circ Res.* 2005;97:268-276.
20. Fitzgerald LW, Burn TC, Brown BS, Patterson JP, Corjay MH, Valentine PA, et al. Possible role of valvular serotonin 5-HT_{2B} receptors in the cardiopathy associated with fenfluramine. *Mol Pharmacol.* 2000;57:75-81.
21. Nebigil CG, Hickel P, Messaddeq N, Vonesch JL, Douchet MP, Monassier L, et al. Ablation of serotonin 5-HT_{2B} receptors in mice leads to abnormal cardiac structure and function. *Circulation.* 2001;103:2973-2979.
22. Nebigil CG, Jaffré F, Messaddeq N, Hickel P, Monassier L, Launay JM, et al. Overexpression of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in heart leads to abnormal mitochondrial function and cardiac hypertrophy. *Circulation.* 2003;107:3223-3229.
23. Shyu KG. Serotonin 5-HT_{2B} receptor in cardiac fibroblast contributes to cardiac hypertrophy: a new therapeutic target for heart failure? *Circ Res.* 2009;104:1-3.
24. Manjarrez G, Neri-Gómez T, Herrera-Márquez R, Boyzo-Montes de Oca A, Mansilla-Olivares A, Hernández-Rodríguez J. Diabetes mellitus causes changes in the heart intrinsic serotonergic system during the development of the cardiomyopathy. *Glob Adv Res J Med Med Sci.* 2015;4:485-492.
25. Côté F, Thévenot E, Fligny C, Fromes Y, Darmon M, Ripoche MA, et al. Disruption of the nonneuronal tph1 gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:13525-13230.
26. Lairez O, Cognet T, Schaak S, Calise D, Guilbeau-Frugier C, Parini A, et al. Role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the development of cardiac hypertrophy in response to aortic constriction in mice. *J Neural Transm (Vienna).* 2013;120:927-935.