

Triptófano-5-hidroxilasa, transportador de serotonina y receptores serotoninérgicos en miocardiopatía dilatada

Tryptophan-5-hydroxylase, serotonin transporter protein and serotonergic receptors in dilated cardiomyopathy

José A. Mondragón-Herrera¹, Yesenia Serrano-Hernández¹, Guillermo Valero-Elizondo², Armando Mansilla-Olivares¹ y Gabriel Manjarrez-Gutiérrez^{3*}

¹Laboratorio de Patología Molecular, Unidad de Investigación Biomolecular, Hospital de Cardiología; ²Servicio de Patología, Hospital de Cardiología;

³Unidad de Investigación en Enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México

Resumen

Antecedentes: Los cardiomiocitos sintetizan, utilizan y recapturan serotonina, la cual participa en la modulación parácrina y autócrina de la actividad del corazón y en la fisiopatología de algunas enfermedades cardiovasculares. **Objetivo:** Determinar la expresión de triptófano-5-hidroxilasa (TPH) 1 y 2, transportador de serotonina (SERT) y receptores serotoninérgicos en corazones con miocardiopatía dilatada (MCD) en comparación con controles. **Método:** Estudio comparativo en seis bloques de la pared libre del ventrículo izquierdo (PLVI) y del septum interventricular de pacientes fallecidos por MCD y seis que murieron por enfermedades no cardiovasculares. Se obtuvieron cinco cortes de cada bloque para determinar la expresión de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos con anticuerpos específicos por inmunofluorescencia. La inmunofluorescencia fue analizada por la *t* de Student, aceptando un nivel de significancia de $p < 0.05$. **Resultados:** Se observó un aumento en la expresión de TPH1 y TPH2 y en los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en las estructuras dilatadas en comparación con los controles ($p < 0.05$). El receptor 5-HT₄ aumentó su expresión en el septum interventricular dilatado ($p < 0.05$) y el SERT en la PLVI en comparación con los controles ($p < 0.05$). **Conclusiones:** Estos resultados sugieren que los aumentos observados en las expresiones de TPH, SERT y receptores serotoninérgicos en corazones con MCD en comparación con controles podrían desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la MCD en los humanos.

Palabras clave: Miocardiopatía dilatada. Triptófano-5-hidroxilasa. Serotonina. SERT. Receptores serotoninérgicos.

Abstract

Background: Cardiomyocytes synthesize, utilize and reuptake serotonin, which is involved in the paracrine and autocrine modulation of heart activity and in the pathophysiology of some cardiovascular diseases. **Objective:** To determine the expression of tryptophan-5-hydroxylase (TPH) 1 and 2, serotonin transporter protein (SERT) and serotonergic receptors in hearts with dilated cardiomyopathy (DCM) compared to controls. **Method:** A comparative study was performed in six tissue blocks of the left ventricular free wall (LVWL) and inter-ventricular septum from patients who died of DCM and six who died of no cardiovascular diseases (controls). Five slices from each block were obtained to determine the expression of TPH1 and TPH2, SERT and serotonergic receptors with antibodies specific for immunofluorescence. Immunofluorescence was analyzed by Student's *t*-test, accepting a significance level of $p < 0.05$. **Results.** An increase in TPH1, TPH2, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2B} receptors expression were observed in dilated structures compared to controls ($p < 0.05$). For dilated inter-ventricular septum, the 5-HT₄

Correspondencia:

*Gabriel Manjarrez-Gutiérrez

E-mail: willisga@prodigy.net.mx; gmanjarrezg@gmail.com

0009-7411/© 2021 Academia Mexicana de Cirugía. Publicado por Permayer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 04-06-2021

Fecha de aceptación: 02-09-2021

DOI: 10.24875/CIRU.21000506

Cir Cir. 2022;90(6):781-788

Contents available at PubMed

www.cirurgiaycirujanos.com

receptor increased its expression ($p < 0.05$), and SERT in PLVI compared to controls ($p < 0.05$). **Conclusions.** These results suggest that the increases observed in the expression of TPH, SERT, and serotonergic receptors in hearts with DCM compared to controls could play an important role in the pathophysiology of MCD in humans.

Keywords: Dilated cardiomyopathy. Tryptophan-5-hydroxylase. Serotonin. SERT. Serotonergic receptors.

Introducción

Varias líneas de evidencia sugieren que la 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina regula la función cardiovascular durante la embriogénesis y en la vida adulta¹⁻³. La 5-HT es sintetizada por las células enterocromafines del intestino, es secretada a la sangre⁴ y almacenada en las plaquetas⁵. La 5-HT plasmática también puede ser capturada por las neuronas simpáticas⁶ y células endoteliales de los vasos sanguíneos^{7,8}. El efecto que tiene la 5-HT en el sistema cardiovascular es complejo; por ejemplo, la 5-HT se ha relacionado con bradicardia o taquicardia, hipotensión o hipertensión, vasodilatación o vasoconstricción⁹⁻¹², y en la fisiopatología de diversas enfermedades cardiovasculares asociadas con el incremento de los niveles de 5-HT plasmática, como en el síndrome carcinoide^{13,14}, la enfermedad valvular^{15,16}, las arritmias, la fibrilación auricular y el bloqueo auriculoventricular en pacientes que reciben inhibidores de la recaptura de 5-HT^{17,18}. También se ha demostrado que la activación del receptor 5-HT_{2B} en el corazón produce proliferación de fibroblastos y fibrosis subendocárdica^{16,17,19}. Además, la 5-HT regula la actividad de los cardiomiocitos de ratas con insuficiencia cardíaca a través de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT₄; ambos inducen un efecto inotrópico positivo a través de la fosforilación de la cadena ligera de miosina^{20,21}. Por otro lado, la liberación de serotonina por las plaquetas contribuye de manera importante en la regulación de los fibroblastos cardíacos, promoviendo su migración y diferenciación a través de la activación del receptor 5-HT_{2A}²². Con técnicas de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real e inmunohistoquímica se ha demostrado la expresión de los receptores 5-HT_{2B}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} en las células intersticiales de las válvulas cardíacas en los humanos; estos receptores pueden ser activados por los niveles de serotonina plasmática^{16,23}. Asimismo, se ha reportado la presencia de mastocitos productores de 5-HT y la expresión de la triptófano-5-hidroxilasa (TPH) durante la cardiogénesis²⁴ y en las células intersticiales localizadas en las válvulas del corazón adulto²⁵.

Todos estos datos interesantes plantean la pregunta acerca del origen de la 5-HT en el corazón. En los seres humanos, el miocardio contiene alrededor de 0.4 µg de 5-HT/g de tejido²⁶, y su origen no está claro. Se ha sugerido que procede de la síntesis local por la TPH2 en los ganglios autónomos²⁷ o que es capturada por el transportador de serotonina (SERT) de los depósitos plasmáticos. Sin embargo, hay evidencia de la presencia de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B} en ratas normales²⁸ y con cardiomiopatía diabética²⁹. Recientemente también se han reportado en corazones de humanos fallecidos por causas ajenas a enfermedad cardiovascular³⁰. Por lo tanto, estos hallazgos, en conjunto, sugieren la presencia de un sistema serotoninérgico intrínseco que participa en la modulación autocrina y paracrina del funcionamiento del corazón en los humanos²⁸⁻³⁰.

Basándonos en estos hallazgos, el objetivo del presente trabajo fue determinar la expresión de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en los cardiomiocitos de la pared libre del ventrículo izquierdo y del *septum* interventricular de pacientes fallecidos por miocardiopatía dilatada (MCD) en comparación con controles.

Método

Se realizó un estudio transversal comparativo en seis bloques de tejido de la pared libre del ventrículo izquierdo (PLVI) y del *septum* interventricular (SIV) de pacientes fallecidos de MCD y seis que murieron de enfermedades no cardiovasculares. Las muestras de tejido fueron obtenidas de los archivos de patología del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social y del Hospital General de México, SSA. Al no existir antecedentes de un estudio similar en la literatura, el tamaño de la muestra se adecuó a la disponibilidad de los tejidos. Se obtuvieron cinco cortes de la PLVI y del SIV en cada uno de los bloques de tejido de cada grupo, con el objetivo de determinar las expresiones de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ por

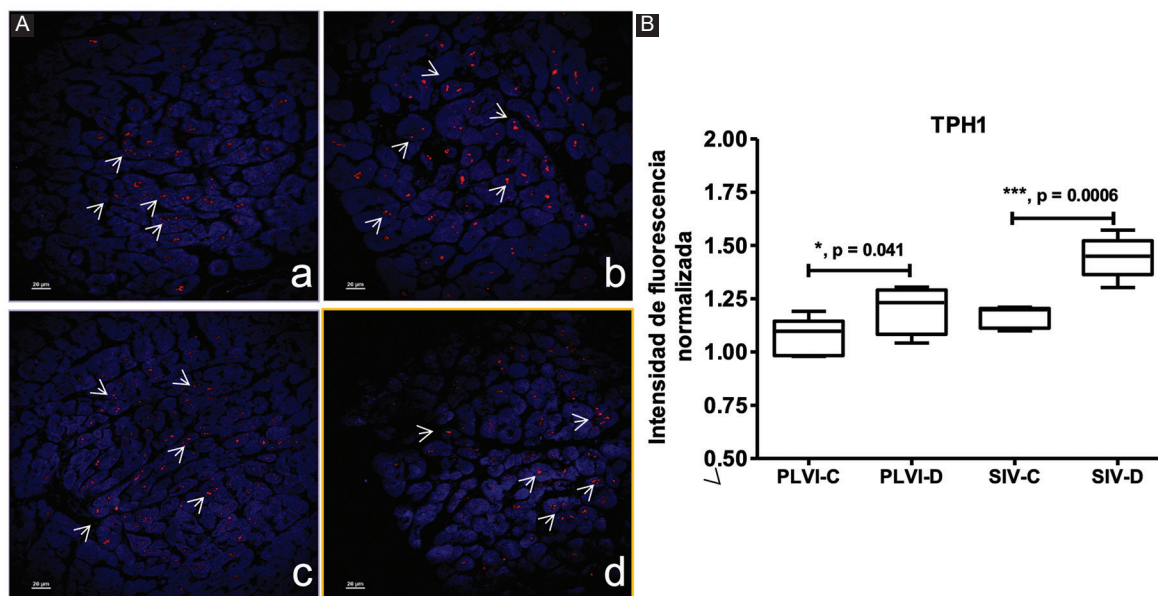


Figura 1. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a TPH1. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, \rightarrow 20 μ M. **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios \pm la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba t de Student. * $p < 0.05$. *** $p < 0.001$.

inmunofluorescencia mediante anticuerpos específicos para cada una de las moléculas, las cuales fueron observadas y cuantificadas en un microscopio confocal invertido Nikon Ti Eclipse equipado con un sistema de imágenes AI, ambos controlados por el *software* NIS Elements v.5.50.

Inmunofluorescencia para TPH 1 y TPH 2, SERT, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄

Los cortes de los corazones, de 4 μ M de grosor, fueron colocados en portaobjetos electrocargados. La desparafinación de los cortes se realizó en xilol y alcohol, y se hidrataron en PBS. Posteriormente se bloquearon con el bloqueador de fluorescencia (Blocking Fluorescence Merk-Millipore, USA) por 30 minutos en cámara húmeda a 37 °C. Después, los cortes fueron incubados con los anticuerpos primarios monoclonales específicos para TPH1 (Gene Tex International Corp) y TPH2 (Abcam, Cambridge, Reino Unido), y policlonales para SERT (Chemicon, USA), 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ (Santa Cruz, Biotechnology Inc, USA), a una dilución de 1:500 en solución de bloqueo para fluorescencia. Al día siguiente, los cortes se lavaron con PBS-Tween al 0.1%, después se incubaron con Alexa Fluor 564 anti rabbit en una dilución de 1:500 por 2 horas. Al término, los cortes

fueron montados con ProLong Diamond Antifade Mountant con DAPI (Life Technologies Corporation, USA), para la inmunofluorescencia, y después fueron analizados en un microscopio confocal invertido Nikon Ti Eclipse equipado con un sistema de imágenes AI, ambos controlados por el *software* NIS Elements v.5.50. Las imágenes se obtuvieron mediante un objetivo de 40x (aceite 1.3). Los colorantes utilizados fueron excitados de modo secuencial utilizando la línea de láser 405 nm (DAPI) y 564 nm (Alexa 564). La fluorescencia correspondiente fue adquirida en los rangos de 401-472 nm (DAPI) y 570-620 nm (Alexa 564), utilizando los conjuntos de filtros proporcionados por el fabricante. Las imágenes fueron analizadas mediante el programa NIS Elements v 5.50.

Métodos estadísticos

Las expresiones de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en la PLVI y el SIV se obtuvieron mediante la intensidad de fluorescencia de cada una de las moléculas en cada uno de los grupos. Primero se obtuvieron los promedios y las desviaciones estándar, y luego la intensidad de fluorescencia fue normalizada (IFN). Después, los grupos fueron comparados con la prueba t de Student, aceptando un nivel de significancia de $p < 0.05$.

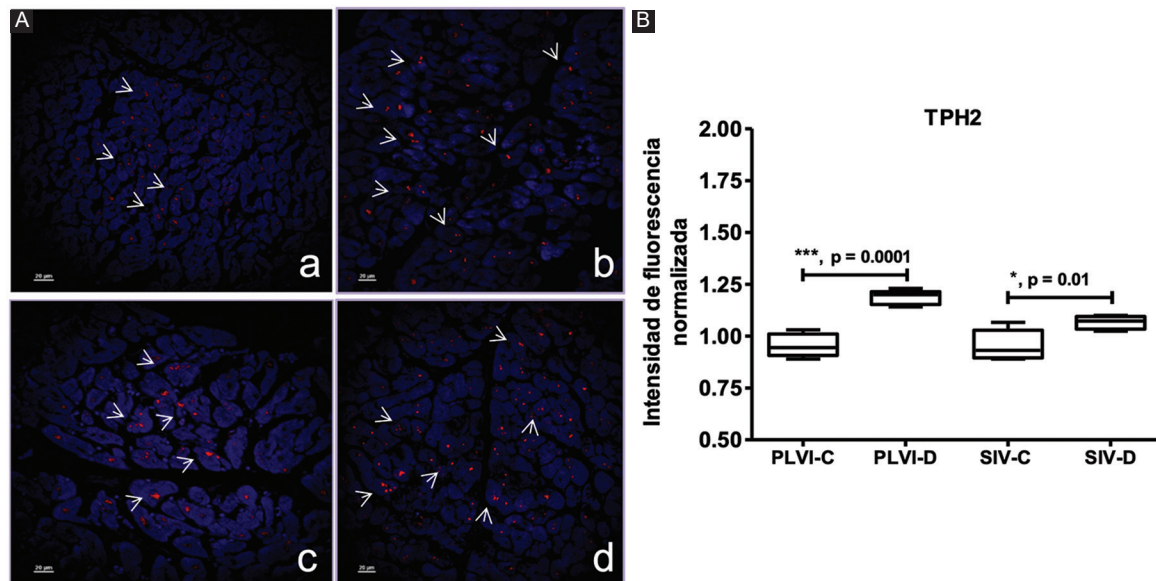


Figura 2. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a TPH2. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, --- 20 μM . **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios \pm la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba t de Student. * $p < 0.05$. *** $p < 0.001$.

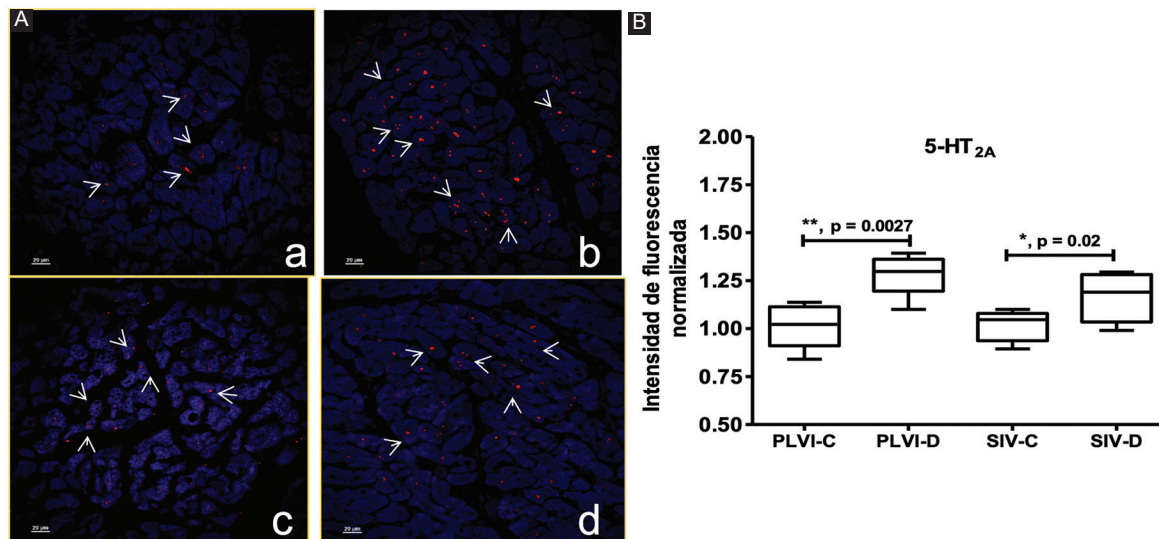


Figura 3. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT_{2A}. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40x, --- 20 μM . **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios \pm la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba t de Student. * $p < 0.05$. ** $p < 0.01$.

Resultados

La figura 1 A muestra la expresión de TPH1 en los cardiomiocitos de la PLVI y el SIV en ambos grupos. La IFN de la enzima aumentó significativamente en

ambas estructuras de los corazones con MCD en comparación a los controles (PLVI, $p = 0.041$, diferencia de medias (DM) -0.124 ± 0.063 , $p < 0.05$; SIV, $p < 0.0006$, DM -0.277 ± 0.048 , $p < 0.001$) (Fig. 1 B). Con relación a la expresión de la TPH2 que mostraron

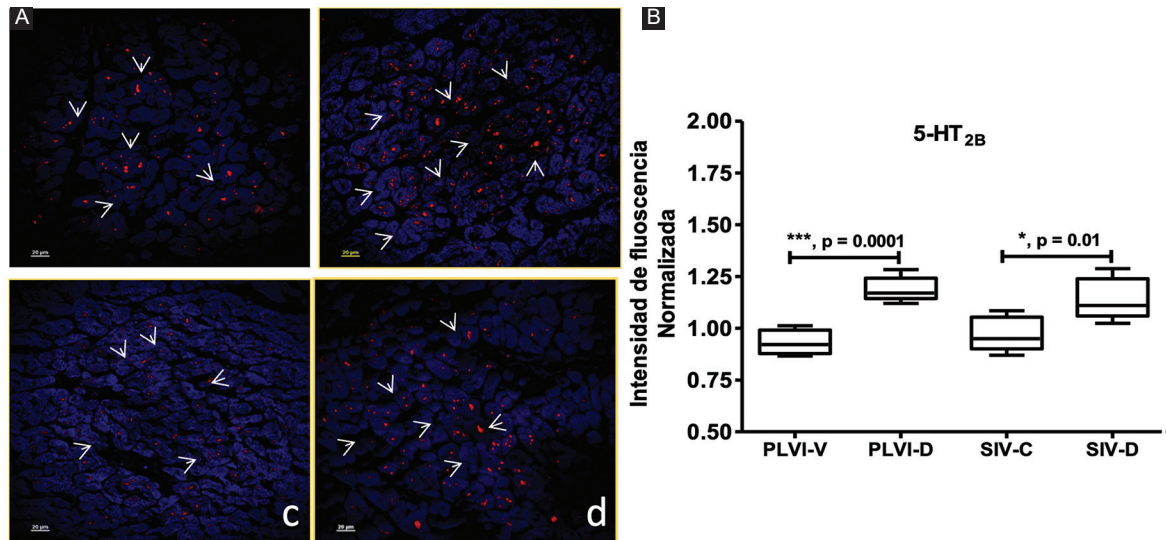


Figura 4. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT_{2B}. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40×, — 20 μM. **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios ± la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba t de Student. *p < 0.05. ***p < 0.001.

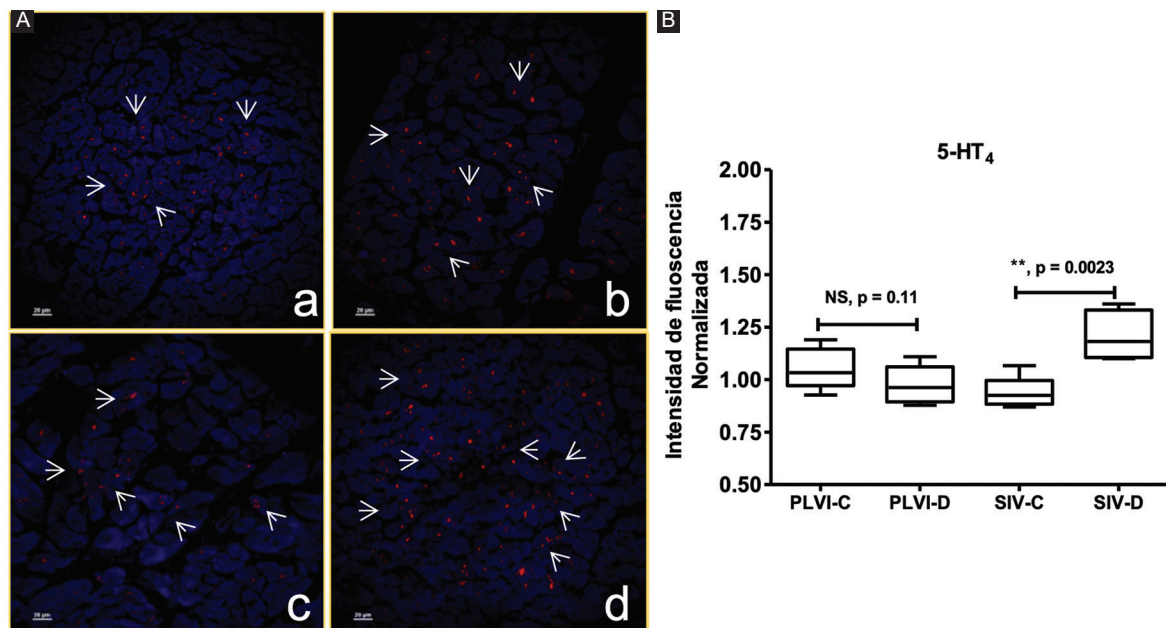


Figura 5. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunorreactivos a 5-HT₄. Las flechas señalan la inmunorreactividad en el citoplasma. Escala 40×, — 20 μM. **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios ± la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba t de Student. **p < 0.001. NS: no significativo.

los cardiomiocitos en los corazones con MCD y los controles, se muestra en la figura 2 A. Nótese que la expresión de la TPH2 incrementó en ambas estructuras dilatadas al compararlas con las controles (PLVI,

p = 0.0001, DM -0.231 ± 0.029 , p < 0.001; SIV, p = 0.01, DM -0.111 ± 0.039 , p < 0.05) (Fig. 2 B).

La expresión del receptor 5-HT_{2A} en los cardiomiocitos de la PLVI y el SIV en los corazones de ambos

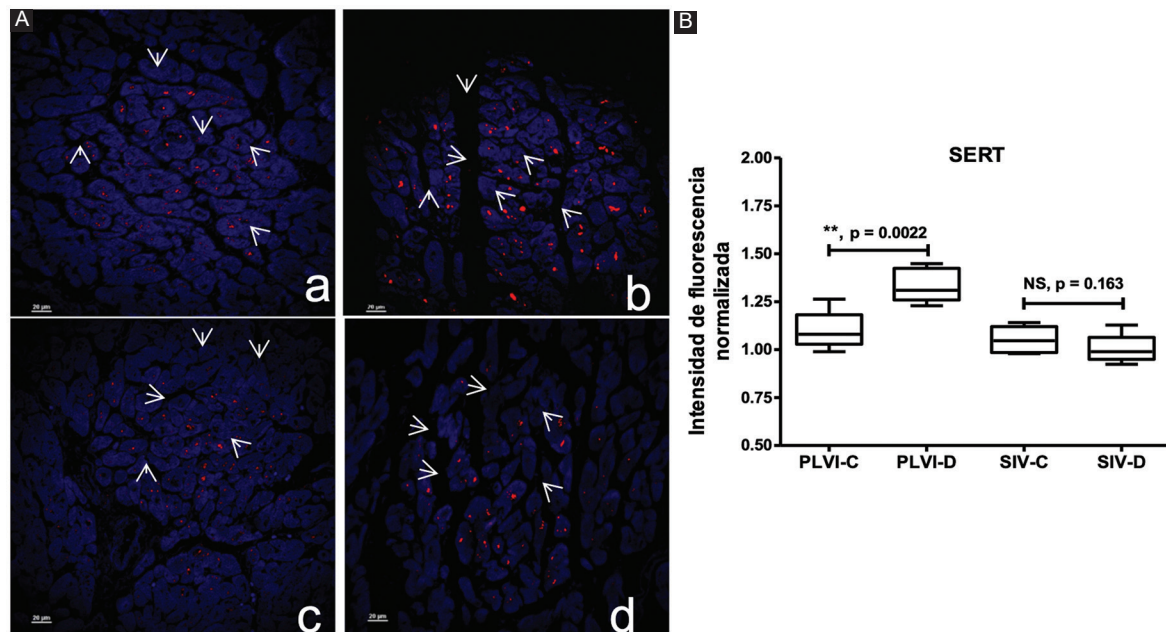


Figura 6. A: micrografías de cortes transversales de la PLVI (a, control; b, dilatada) y del SIV (c, control; d, dilatado) que muestran cardiomiocitos inmunoreactivos a SERT. Las flechas señalan la inmunoreactividad en el citoplasma. Escala 40 \times , — 20 μM . **B:** IFN de la PLVI y del SIV. Cada barra corresponde a los promedios \pm la desviación estándar de cinco determinaciones en cada grupo. La diferencia entre grupos se obtuvo por la prueba *t* de Student. ** $p < 0.01$. NS: no significativo.

grupos se muestra en la figura 3 A. Como se puede ver en la figura 3 B, la IFN que mostró el receptor 5-HT_{2A} fue significativamente mayor en ambas estructuras de los corazones con MCD en comparación con los controles (PLVI, $p = 0.0027$, DM -0.268 ± 0.070 , $p < 0.01$; SIV, $p = 0.02$, DM -0.148 ± 0.067 , $p < 0.05$). En la figura 4 A se muestra la expresión del receptor 5-HT_{2B} en los corazones de ambos grupos; la IFN aumentó significativamente en los cardiomiocitos de ambas estructuras dilatadas en comparación con las controles (PLVI, $p = 0.0001$, DM -0.256 ± 0.037 , $p < 0.001$; SIV, $p = 0.01$, DM -0.169 ± 0.058 , $p < 0.05$) (Fig. 4 B).

En la figura 5 A se muestra la expresión del receptor 5-HT₄ en los cardiomiocitos de la PLVI y el SIV. La IFN del receptor en la PLVI no mostró diferencias significativas en ambos grupos; en cambio, el SIV dilatado tuvo un aumento significativo al compararlo con el control ($p = 0.0023$, DM -0.269 ± 0.065 , $p < 0.01$) (Fig. 5 B). Y con respecto a la expresión de SERT en los cardiomiocitos de ambos grupos, se muestra en la figura 6 A. Se observó un aumento significativo de la IFN en la PLVI en los corazones con MCD en comparación con los controles (PLVI, $p = 0.0022$, DM -0.235 ± 0.059 , $p < 0.01$) y no hubo diferencias en el SIV entre ambos grupos (Fig. 6 B).

Discusión

El principal objetivo de nuestro estudio fue determinar la expresión de TPH1 y TPH2, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄ en los cardiomiocitos de la PLVI y el SIV en corazones de pacientes fallecidos de MCD en comparación con corazones de pacientes que murieron por enfermedades no cardiovasculares. El presente trabajo confirma resultados previos observados en los cardiomiocitos ubicados en las estructuras de corazones normales en ratas y humanos que expresan ambas isoformas de la TPH, SERT y receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT₄^{28,30}, y los amplía a los cardiomiocitos de corazones con MCD. Es importante señalar que la PLVI y el SIV de los corazones con MCD mostraron un aumento significativo de las expresiones de ambas isoformas de la TPH y de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}. El receptor 5-HT₄ solo aumentó en el SIV y SERT en la PLVI en comparación con los corazones controles. El aumento de la expresión de las isoformas de la TPH en las estructuras dilatadas sugiere que los cardiomiocitos de estas regiones del corazón tienen la capacidad de sintetizar serotonina, la cual podría participar en la modulación autocrina y paracrina de la actividad de los cardiomiocitos³⁰.

De la misma manera, los aumentos observados en las expresiones de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT₄ en los corazones con MCD sugieren que estos receptores podrían participar en la actividad eléctrica de los cardiomiocitos y en la regulación de la fuerza de contracción ventricular durante la evolución de la MCD, similar a lo reportado en un modelo experimental de insuficiencia ventricular aguda²⁰. También en este estudio se observó un aumento significativo de la expresión del receptor 5-HT_{2B} en ambas estructuras de los corazones con MCD en comparación con las estructuras cardíacas controles. Se ha demostrado que este receptor regula el desarrollo y las funciones cardíacas^{31,32}, y existe evidencia de que su sobreexpresión en los cardiomiocitos de ratones induce una proliferación mitocondrial dentro de los mecanismos moleculares que se han propuesto en la transición de la hipertrofia de los cardiomiocitos a la insuficiencia cardíaca³³⁻³⁵, aspectos que comúnmente se presentan en fisiopatología de la MCD^{36,37}. Además, también se demostró un aumento significativo de la expresión de SERT en la PLVI en los corazones dilatados en comparación con los controles. El aumento de SERT en los cardiomiocitos podría participar activamente en la dinámica entre la recaptura y el catabolismo de la serotonina en los corazones de los humanos con MCD^{2,3,38}.

Conclusiones

Con la información disponible y los resultados obtenidos, podemos confirmar que la MCD causa importantes aumentos en la expresión de TPH, SERT y receptores serotoninérgicos en los cardiomiocitos en comparación con los cardiomiocitos controles. Por lo tanto, estos incrementos en conjunto podrían tener un papel importante en el desarrollo de la fisiopatología de la MCD en los humanos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa participación del Dr. Vadim Pérez Koldenkova, por la adquisición de las imágenes en el microscopio confocal del Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Financiamiento

Los autores declaran no haber recibido ningún financiamiento.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores dedarar que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores dedarar que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido la aprobación del Comité de Ética para el análisis y publicación de datos clínicos obtenidos de forma rutinaria. El consentimiento informado de los pacientes no fue requerido por tratarse de un estudio observacional retrospectivo.

Bibliografía

1. Yavarone MS, Shuey DL, Tamir H, Sadler TW, Lauder JM. Serotonin and cardiac morphogenesis in the mouse embryo. *Teratology*. 1993;47:573-84.
2. Nebigil CG, Maroteaux L. A novel role for serotonin in heart. *Trends Cardiovasc Med*. 2001;11:329-35.
3. Frishman WH, Grewall P. Serotonin and the heart. *Ann Med*. 2000;32:195-209.
4. Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF 3rd, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB J*. 2015;9:1395-403.
5. Mercado CP, Kilic F. Molecular mechanisms of SERT in platelets: regulation of plasma serotonin levels. *Mol Interv*. 2010;10:231-41.
6. Sah DW, Matsumoto SG. Evidence for serotonin synthesis, uptake, and release in dissociated rat sympathetic neurons in culture. *J Neurosci*. 1987;7:391-9.
7. Vanhoutte PM. Serotonin and the vascular wall. *Int J Cardiol*. 1987;14:189-203.
8. Baskar K, Sur S, Selvaraj V, Agrawal DK. Functional constituents of a local serotonergic system, intrinsic to the human coronary artery smooth muscle cells. *Mol Biol Rep*. 2015;42:1295-307.
9. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002;71:533-54.
10. Pöncke K, Gergs U, Buchwalow IB, Hauptmann S, Neumann J. On the presence of serotonin in mammalian cardiomyocytes. *Mol Cell Biochem*. 2012;365:301-12.
11. Ramage AG, Villalon CM. 5-hydroxytryptamine and cardiovascular regulation. *Trends Pharmacol Sci*. 2008;29:472-81.
12. 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;100:13525-30.
13. Ahlman H. Serotonin and carcinoid tumors. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1985;(Suppl 7):S79-85.
14. Robiolo PA, Rigolin VH, Wilson JS, Harrison JK, Sanders LL, Bashore TM, et al. Carcinoid heart disease. Correlation of high serotonin levels with valvular abnormalities detected by cardiac catheterization and echocardiography. *Circulation*. 1995;92:790-5.
15. Gustafsson BI, Tommeras K, Nordrum I, Loennechen JP, Brunsvik A, Solligard E, et al. Long-term serotonin administration induces heart valve disease in rats. *Circulation*. 2005;111:1517-22.
16. Elangbam CS, Lightfoot RM, Yoon LW, Creech DR, Geske RS, Crumbley CW, et al. 5-Hydroxytryptamine (5HT) receptors in the heart valves of cynomolgus monkeys and Sprague-Dawley rats. *J Histochem Cytochem*. 2005;53:671-7.

17. 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.
18. Oh SW, Kim J, Myung SK, Hwang SS, Yoon DH. Antidepressant use and risk of coronary heart disease: meta-analysis of observational studies. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;78:727-37.
19. Hutcheson JD, Setola V, Roth BL, Merryman WD. Serotonin receptors and heart valve disease — it was meant 2B. *Pharmacol Ther*. 2011;132:146-57.
20. 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;97:268-76.
21. Brattelid T, Qvigstad E, Moltzau LR, Bekkevold SV, Sandnes DL, Birkeland JA, et al. The cardiac ventricular 5-HT₄ receptor is functional in late foetal development and is reactivated in heart failure. *PLoS One*. 2012;7:e45489.
22. Yabanoglu S, Akkiki M, Seguelas MH, Mialet-Perez J, Parini A, Pizzinat N. Platelet derived serotonin drives the activation of rat cardiac fibroblasts by 5-HT_{2A} receptors. *J Mol Cell Cardiol*. 2009;46:518-25.
23. Roy A, Brand NJ, Yacoub MH. Expression of 5-hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNA in interstitial cells from human heart valves. *J Heart Valve Dis*. 2000;9:256-60, discussion 260-1.
24. Manjarrez-Gutiérrez G, Camacho-Calderón N, Mercado-Camargo R, Boyzo-Montes de Oca A, Arvizu-Flores A, Hernández-Rodríguez J. Characterization of serotonergic cells in fetal heart tissue. *Cir Cir*. 2009;77:395-400.
25. Disatian S, Lacerda C, Orton EC. Tryptophan hydroxylase 1 expression in increased in phenotype-altered canine and human degenerative myxomatous mitral valves. *J Heart Valve Dis*. 2010;19:71-8.
26. Sole MJ, Shum A, Van Loon GR. Serotonin metabolism in the normal and failing hamster heart. *Circ Res*. 1979;45:629-34.
27. Singh S, Johnson PI, Javed A, Gray TS, Lonchyna VA, Wurster RD. Monoamine- and histamine-synthesizing enzymes and neurotransmitters within neurons of adult human cardiac ganglia. *Circulation*. 1999;99:411-9.
28. Manjarrez GG, Neri GT, Boyzo MOA, Hernández RJ. Characterization of an intrinsic serotonergic system in rat heart. *Glo Adv Res J Med Med Sci*. 2015;4:083-91.
29. Manjarrez GG, Neri GT, Herrera MR, Boyzo MOA, Mansilla OA, Hernández RJ. Diabetes mellitus causes changes in the heart intrinsic serotonergic system during the development of the cardiomyopathy. *Glo Adv Res J Med Med Sci*. 2015;4:485-92.
30. 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.
31. Nebigil CG, Etienne N, Schaerlinger B, Hickel P, Launay LM, Maroteaux L. Developmentally regulated serotonin 5-HT_{2B} receptors. *Int J Dev Neurosci*. 2001;19:365-72.
32. Nebigil CG, Choi DS, Dierich A, Hickel P, Le Meur M, Messaddeq N, et al. Serotonin 2B receptor is required for heart development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:9508-13.
33. Nebigil CG, Maroteaux L. Functional consequence of serotonin/5-HT_{2B} receptor signaling in heart: role of mitochondria in transition between hypertrophy and heart failure? *Circulation*. 2003;108:902-8.
34. Chien KR. Genomic circuits and the integrative biology of cardiac diseases. *Nature* 2000; 407:227-32.
35. Roberts WC, Ferrans VJ. Pathologic anatomy of the cardiomyopathies. Idiopathic dilated and hypertrophic types, infiltrative types, and endomyocardial disease with and without eosinophilia. *Hum Pathol*. 1975;6:287-342.
36. Hey TM, Rasmussen TB, Madsen T, Aagaard MM, Harbo M, Mølgaard H, et al. Clinical and genetic investigations of 109 index patients with dilated cardiomyopathy and 445 of their relatives. *Circ Heart Fail*. 2020;13:e006701.
37. Li L, Morimoto S, Take S, Zhan DY, Du CK, Wang YY, et al. Role of brain serotonin dysfunction in the pathophysiology of congestive heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;53:760-7.
38. Ni W, Watts SW. 5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT). *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33:575-83.