

Serotonins effekt på embryonalt og sviktende myokard

Ruben A. Claassens
Kull H-11

Veiledere: Eirik Qvigstad, kardiolog og PhD, hjertemedisinsk avdeling, Oslo universitetssykehus Ullevål, og Stefan Agewall, kardiolog og professor, overlege hjertemedisinsk avdeling, Oslo universitetssykehus Ullevål



Prosjektoppgave ved det medisinske fakultet
Høst 2016

UNIVERSITETET I OSLO

© Ruben Alexander Claassens

Copyright Ruben Alexander Claassens

2016

Serotonins effekt på embryonalt og sviktende myokard

Ruben Alexander Claassens

<http://www.duo.uio.no>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Abstract

Since first being described in 1948, serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) has been discovered to exert effects on a vast array of organs and bodily functions. Cardiovascular effects of serotonin were observed in vivo shortly thereafter, but knowledge about the biochemical processes on receptor level was lacking. By the early 1990s, technological advances had led to the discovery of several families and subtypes of the serotonin receptor, and several lines of research were started to assess the effects of serotonin on the fetal and adult heart. Serotonin was, through the 5-HT_{2B} receptor, found to play a vital part in the cardiac embryogenesis, by instigating migratory, morphogenic and trophic responses in the developing heart. In a mouse model, deletion of the gene coding for the 5-HT_{2B} receptor was associated with an increase in perinatal mortality. Overstimulation of the 5-HT_{2B} receptor in the adult human heart has been shown to induce cardiac valvulopathies, particularly in the form of regurgitations, and ventricular hypertrophy, with subsequent cardiac fibrosis, predisposing heart failure. Results have shown that the 5-HT₄ receptor is of particular importance in cardiac remodeling following manifest heart failure, with the receptor being upregulated and its inotropic effect potentiated, thus increasing myocardial oxygen consumption. Based on experimental findings, it has been hypothesized that selective serotonin antagonism might prove beneficial in the failing heart. However, preliminary experimental studies in animals have shown a lesser treatment effect than expected. Similar results were shown in a clinical trial of a 5-HT₄ antagonist, and no use has been found for serotonin antagonism in a clinical setting thus far.

Serotonins effekt på embryonalt og sviktende myokard

Innholdsfortegnelse

1. Introduksjon.....	1
1.1 Valg av oppgave	1
1.2 Hjertesvikt	2
1.3 Serotonin	4
2. Serotonins rolle for embryonal myokardutvikling	6
3. Serotonin og hjertefunksjon.....	10
3.1 5-HT ₄ -reseptorer.....	11
3.2 5-HT _{2B} -reseptorer.....	14
4. Mulige farmakologiske anvendelser	17
5. Diskusjon	20
6. Konklusjon.....	23

1. Introduksjon

1.1 Valg av oppgave

Hjertesvikt er en tilstand man hyppig støter på i løpet av medisinstudiet, men lite blir presentert om det molekylære grunnlaget for utvikling av sykdomsbildet vi treffer på. Jeg forsøkte å få en basal oversikt over dette da jeg første gang oppdaget at serotonin kunne ha innvirkning på hjertefunksjon. Serotonin stod for meg som lite annet enn en transmitter i SNS og gastrointestinalsystemet, så jeg valgte å lese mer om temaet.

Først i dette innså jeg hvordan serotonin påvirker langt flere kroppsfunksjoner enn hva jeg var klar over, og jeg ble interessert i hvordan dette gradvis har blitt avduket i løpet av nært 70 år. Jeg oppdaget også at en forskergruppe med forankring i Rikshospitalet har vært ledende i forskning på en av de mange serotoninreseptorene.

Etter et bredt litteratursøk på kardiovaskulære effekter av serotonin valgte jeg å snevre inn oppgaven til å omhandle 5-HT_{2B}- og 5-HT₄-reseptorene, da jeg følte av disse var best egnet til å presentere et bilde av serotoninens rolle for hjertefunksjonen uten å påføre oppgaven for stort omfang. 5-HT_{2B}-reseptoren er den mest undersøkte med henhold til kardial funksjon, og har vist seg særlig viktig for utvikling av hjertesvikt (1). Kunnskap om 5-HT₄-reseptoren er av langt nyere dato, og har først og fremst kartlagt betydning etter intruffet hjertesvikt (2). Teksten tar i så måte sikte på å belyse serotoninens patofysiologiske rolle i utviklingen av og ved etablert hjertesvikt.

Kardiovaskulær effekt av serotonin er også vist gjennom blant annet induksjon av pulmonal hypertensjon (3), med påfølgende risiko for utvikling av cor pulmonale, uten at dette omtales videre da oppgaven begrenser seg til primære kardiale prosesser. Tilsvarende omtales heller ikke serotoninproduserende nevroendokrine tumores (tidl. karsinoide tumores) i videre grad.

1.2 Hjertesvikt

Hjertesvikt er et klinisk syndrom definert gjennom et klassisk symptom-bilde med manifestasjoner som dyspné, væskeretensjon og fatigue (4). Symptomene kan ofte være ledsaget av kliniske funn, typisk i form av økt trykk i jugularvener, knatrelyder over lungeflater og perifere ødemer. Funn og symptomer skyldes funksjonell eller strukturell hjerteanomali som resulterer i reduksjon av hjertets minuttvolum eller økt intrakardialt trykk. Hjertesvikt er som begrep definert begrenset til tilfeller der hjerteanomalien er ledsaget av kliniske symptomer, funn av kardiaale abnormiteter uten kliniske manifestasjoner regnes kun som et forstadium til utvikling av hjertesvikt. Et sikkert funn av underliggende kardial dysfunksjon er dog nødvendig for å kunne stille diagnosen hjertesvikt. Som oftest vil slik dysfunksjon observeres som en myokardial anomali som gir seg utslag i systolisk, diastolisk eller kombinert ventrikulær dysfunksjon. Abnormiteter i hjerteklaffer, perikard, endokard, hjertefrekvens eller ledningssystem er andre hyppige årsaker til utvikling av hjertesvikttilstand.

Hjertesvikt kan inndeles i subtyper på flere grunnlag. Pasienter med manifest hjertesvikt grupperes ofte etter hvorvidt hjertets pumpeevne er bevart, målt ved ejeksjonsfraksjon (EF), typisk gjennom ekkokardiografi. Ejeksjonsfraksjonen er den prosentdel av ventrikkelenes fyllingsvolum under diastole som blir pumpet ut under ett enkelt hjerteslag. Normale, friske hjerter er målt å ha en EF på mellom 50 og 70 %. Ved tilstedeværelse av klassiske symptomer og funn på hjertesvikt og EF målt til <40 % stilles diagnosen systolisk hjertesvikt (HFrEF), som speiler nedsatt kontraktilitet i ventrikkelen. Ved diastolisk hjertesvikt (HFpEF) er EF bevart på ≥ 50 %, men det foreligger symptomer og funn forenlig med hjertesvikt, samt ytterligere indisier i form av økte natriuretiske peptider eller funn av strukturelle hjerteabnormiteter og dysfunksjon i ventrikkelenes fyllingsfase.

Hjertesvikt er som oftest en langsomt progredierende tilstand som har utviklet seg over lang tid før diagnostisering, dette er kjent som kronisk hjertesvikt. En kronisk hjertesvikt kan betone seg stabil over lang tid, men kan forverres brått eller over tid, et fenomen kjent som dekompenisering. En akutt innsettende hjertesvikt er en livstruende tilstands som særlig sees ved plutselig dekompenisering av kronisk hjertesvikt eller som en konsekvens av myokardiale infarkt.

Årsakene til utvikling av hjertesvikt er mangfoldige, men kan grovt inndeles til å skyldes arytmier, myokardskade eller forstyrrelser ved hjertets fylling. Disse er ikke gjensidig utelukkende, og det foreligger ofte en multifaktoriell patogenese med bidragende årsaker fra flere av kategoriene.

DISEASED MYOCARDIUM		
Ischaemic heart disease	Myocardial scar	
	Myocardial stunning/hibernation	
	Epicardial coronary artery disease	
	Abnormal coronary microcirculation	
	Endothelial dysfunction	
Toxic damage	Recreational substance abuse	Alcohol, cocaine, amphetamine, anabolic steroids.
	Heavy metals	Copper, iron, lead, cobalt.
	Medications	Cytostatic drugs (e.g. anthracyclines), immunomodulating drugs (e.g. interferons monoclonal antibodies such as trastuzumab, cetuximab), antidepressant drugs, antiarrhythmics, non-steroidal anti-inflammatory drugs, anaesthetics.
	Radiation	
Immune-mediated and inflammatory damage	Related to infection	Bacteria, spirochaetes, fungi, protozoa, parasites (Chagas disease), rickettsiae, viruses (HIV/AIDS).
	Not related to infection	Lymphocytic/giant cell myocarditis, autoimmune diseases (e.g. Graves' disease, rheumatoid arthritis, connective tissue disorders, mainly systemic lupus erythematosus), hypersensitivity and eosinophilic myocarditis (Churg–Strauss).
Infiltration	Related to malignancy	Direct infiltrations and metastases.
	Not related to malignancy	Amyloidosis, sarcoidosis, haemochromatosis (iron), glycogen storage diseases (e.g. Pompe disease), lysosomal storage diseases (e.g. Fabry disease).
Metabolic derangements	Hormonal	Thyroid diseases, parathyroid diseases, acromegaly, GH deficiency, hypercortisolaemia, Conn's disease, Addison disease, diabetes, metabolic syndrome, pheochromocytoma, pathologies related to pregnancy and peripartum.
	Nutritional	Deficiencies in thiamine, L-carnitine, selenium, iron, phosphates, calcium, complex malnutrition (e.g. malignancy, AIDS, anorexia nervosa), obesity.
Genetic abnormalities	Diverse forms	HCM, DCM, LV non-compaction, ARVC, restrictive cardiomyopathy (for details see respective expert documents), muscular dystrophies and laminopathies.
ABNORMAL LOADING CONDITIONS		
Hypertension		
Valve and myocardium structural defects	Acquired	Mitral, aortic, tricuspid and pulmonary valve diseases.
	Congenital	Atrial and ventricular septum defects and others (for details see a respective expert document).
Pericardial and endomyocardial pathologies	Pericardial	Constrictive pericarditis Pericardial effusion
	Endomyocardial	HES, EMF, endocardial fibroelastosis.
High output states		Severe anaemia, sepsis, thyrotoxicosis, Paget's disease, arteriovenous fistula, pregnancy.
Volume overload		Renal failure, iatrogenic fluid overload.
ARRHYTHMIAS		
Tachyarrhythmias		Atrial, ventricular arrhythmias.
Bradyarrhythmias		Sinus node dysfunctions, conduction disorders.

Figur 1: Etiologi ved utvikling av hjertesvikt (4).

Hjerte- og karregisteret oppgir i sin rapport av 2015 hjertesvikt som den fjerde viktigste kardiovaskulære årsak til kontakt med spesialisthelsetjenesten i Norge (5),

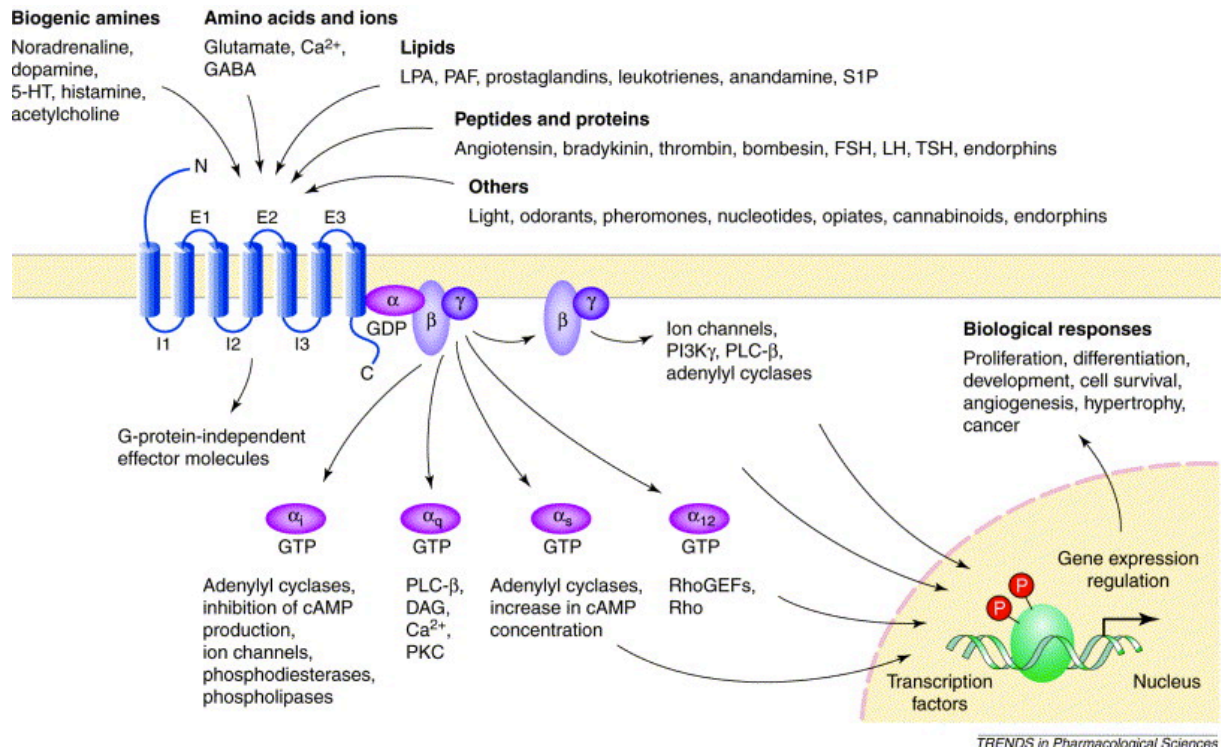
med stigende forekomst ved økende alder. Norsk hjertesviktregister oppgir i sin årsrapport fra 2014 at hjertesviktpasienter utgjør omtrent 2 % av den voksne befolkning i Norge, hvilket gir et pasientgrunnlag på omtrent 100 000 individer (6). Hos befolkningen over 75 år anslås en prevalens på mer enn 10 000 per 100 000, mot en samlet befolkningsprevalens på 1-3 % (7). Hos personer over 65 år angis en insidens på 1000 per 100 000 per år.

1.3 Serotonin

Serotonin (5-HT) er en monoamin-nevrotransmitter som ble oppdaget i blodserum i 1948 og vist å ha vasokonstriktorisk effekt (8). Det fremkom senere at stoffet allerede var blitt ekstrahert fra enterokromaffine celler elleve år tidligere. Stoffet ble da påvist å stimulere tarmmotilitet og gitt navnet enteramin (9). Det ble så snart vist at 5-HT utøver en rekke ulike funksjoner i menneskekroppen, og i vidt forskjellige organsystemer. I dag anses serotonin særlig som viktig i reguleringen av motilitet og peristaltikk i gastrointestinaltraktus, som transmitter i sentralnervesystemet og som vasoaktiv substans i blodbanen. 5-HTs virkning som nevrotransmitter i sentralnervesystemet er mangefasettert og påvirker funksjoner som søvn, humør, hukommelse og innlæring, appetitt, samt regulering av endokrin funksjon og temperatur. Innvirkning på funksjoner så ulike som respirasjon, smerteoppfatning og ejakulasjon er også påvist (10).

Det er funnet 14 kjente serotoninreseptorer, fordelt på 7 forskjellige klasser (11). Med unntak av 5-HT₃-reseptoren, som er en ligandstyrt ionekanal, er alle serotoninreseptorene G-proteinkoblede. G-proteinkoblede reseptorer er en stor og heterogen transmembranproteinfamilie som har som funksjon å genere intracellulær signalrespons på ekstracellulære stimuli (12). Ved binding av en ligand til reseptorens ekstracellulære del gjennomgår reseptoren en konformasjonsendring som resulterer i aktivering av dens intracellulære G-protein (13). G-proteinet består av tre subenheter, G α , G β og G γ . G α -subenheten vil ved aktivering utveksle sitt bundede guanosindifosfat (GDP) mot guanosintrifosfat (GTP) og fririve seg fra G $\beta\gamma$ -komplekset. G α - og G $\beta\gamma$ -subenhetene vil stimulere ulike effektormolekyler, som videre kan aktivere eller inhibere en rekke ulike sekundærbudbringere. Sekundærbudbringeren kan så utøve en rekke ulike intracellulære effekter, deriblant

regulering av genespresjon og aktivering av ionekanaler. Hvilke effektormolekyler og sekundærbudbringere som induseres avhenger av subtypen G-proteinkoblet reseptor som stimuleres.



Figur 2: Grafisk fremstilling av signaltransduksjon og effekt ved stimulering av en G-proteinkoblet reseptor (13).

De fleste av de serotonerge reseptorene virker eksitatorisk eller inhibitorisk på målcellen gjennom å regulere cellulært nivå av cAMP som sekundærbudbringer. 5-HT₁-klassen er vist å utøve inhibitorisk aktivitet i sentralnervesystemet og vasokonstriktorisk effekt i karsengen (14). De resterende seks reseptorklasser har en noe bredere distribuering og ses i ulik grad også i organer og vev som gastrointestinaltraktus, det perifere nervesystem, erytrocytter og glatt muskulatur, i tillegg til ovennevnte utbredelse i særlig sentralnervesystem (15).

Spesielt viktig er her reseptorklasse 5-HT₂, som inkluderer subtyperreseptorene 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} og 5-HT_{2C}. Disse tre reseptorer finnes i alle nevnte vevstyper og er også de eneste av reseptorene som kan ses i erytrocytter og glatt muskulatur. Videre er 5-HT_{2B}-reseptoren avgjørende for kardiovaskulær funksjon og utvikling. I motsetning til resten av de G-proteinkoblede serotoninreseptorene utøver 5-HT₂-

familien sin effekt gjennom sekundærbudbringerne inositoltrifosfat (IP₃) og diacylglyserol (DAG).

2. Serotonins rolle for embryonal myokardutvikling

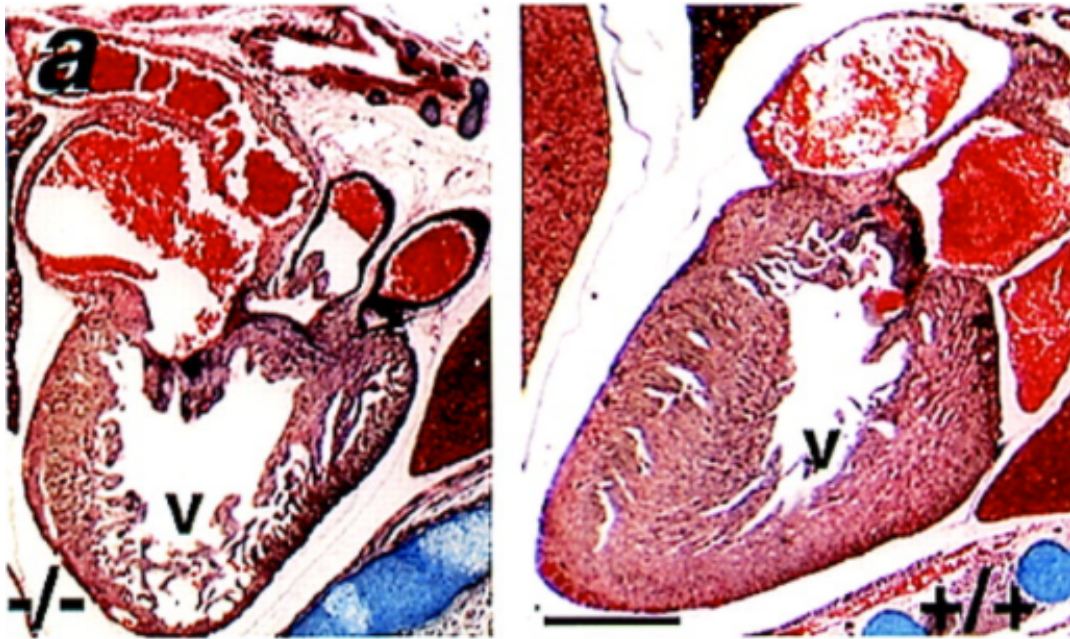
5-HT_{2B}-reseptoren er uttrykt i kardiovaskulært, gastrointestinalt og sentralnervøst vev under embryogenese så vel som voksenliv (16). Det foreligger videre evidens for at 5-HT spiller en betydelig rolle i å regulere kardiovaskulære funksjoner fra fosterstadiet og livet ut.

Yavarone et al. viste i 1993 at det i ICR-museembryo kultivert i nærvær av 5-HT og MAO-hemmeren nialamid foreligger et intenst opptak av 5-HT langs hele det primitive hjerterøret i niende embryonale dag ved immuncytokjemisk undersøkelse (17). Dette svarer til tyvende embryonale dag i human embryogenese. Ved tiende og ellefte embryonale dag så studien et svakere opptak, lokalisert til atrioventrikulærkanalen og utløpstraktus. Studien viste også at det intracellulære serotoninbindende protein (SBP) var tilstedeværende i endokardiale og mesenkymale celler i både kultiverte og ukultiverte embryo, uten variasjon av uttrykksgrad avhengig av kultivasjon. Rundt den tiende embryonale dag, tilsvarende den tjuelfjerde humane, begynner en migrasjon av endoteliale celler fra utløpstraktus og atrioventrikulærkanalen mot den myokardiale basalmembran. Videre proliferasjon av disse cellene gir opphav til hjertermesenkymet i de endokardiale puter, det føtale anlegg som utvikler seg til hjertets septa og klaffer. Studien viser at fraksjonen av endoteliale celler som foretar en slik migrasjon er doseavhengig av 5-HT, med fraksjonsmaksimum ved 0,1 µM. Basert på dette hypotiserer Yavarone et al. at 5-HT fungerer som et doseavhengig morfogent signal i den kardiale utvikling (17). Tilstedeværelse av SBP i mesenkymet kan binde overflødig 5-HT og dermed beskytte mot de teratogene effekter av forhøyet konsentrasjon, der det typiske bildet vil være en senket proliferasjon av myokard, kardialt mesenkym og endotel.

En studie utført av Nebigil et al. (2000) viste at barn av to 5-HT_{2B}-heterozygote mus resulterte i kun 16,7 % homozygot 5-HT_{2B}-negativt avkom, signifikant lavere enn

mendelsk forventede 25 % (18). Dette ble tolket som et resultat av økt embryonal dødelighet, og ved undersøkelse av embryoer oppdaget man at kullene fulgte mendelsk ratio opp til 10,5 dager post-coitum (dpc). Det ble også observert vekstretardasjon hos enkelte muterte embryo ved 9,5 og 10,5 dager. Hos disse fostre ble det også påvist forstørrede hjerter og blodlekkasje til perikardkaviteten. Histologisk analyse av mutanthjerter viste defekter i subepikardium og bortfall av trabekulære celler i ventrikkelen, hvorpå trabekeldefekter ble tolket som viktigste enkeltfaktor for en midgestasjonsdødelighet på 30 %. Den endokardiale pute fremstod normal eller kun lett størrelsesredusert. Transmisjonselektronmikroskopisk (TEM) undersøkelse av muterte hjerter ved 9,5 dpc viste prematur differensiering av sarkomerer i kompaktsonen. Man tenker dermed at ventrikkelveggsruptur kommer som et resultat av denne hypoplasien og medfører blødning til perikard, hvorpå fosteret dør.

Mutanter som overlevde til fødsel fremstod makroskopisk normale, men opplevde en periode med økt dødelighet i første leveuke. 30 % av de muterte mus fremviste tegn på fatigue og dyspné mellom andre og femte postnatale dag, og døde mindre enn 24 timer etter presentasjon av disse symptomene. Det ble også observert en signifikant lavere hjertevekt-kroppsvekt-ratio hos mutantene, 28 % lavere sammenliknet med kontrollgruppen. Histopatologisk så man hos neonatale mutanter betydelig nedsatt ventrikkelmasse, dilaterte hjertekamre og en fortsatt abnorm kompaktzone subepikardialt (18). Studien bygget så videre på teorien til Yavarone et al. om 5-HT som proliferasjonsinstigator i det embryonale hjertet (17), og påviste ved hjelp av nukleotidanaloger at det ikke foregår noe proliferasjonsaktivitet i det neonatale hjertet *in vivo* hos 5-HT_{2B}-negative mus. Ved å påvise at 5-HT_{2B}-manglende mus også har en signifikant nedsatt mRNA-ekspressjon for human epidermal vekstfaktor-reseptor ErbB-2 og utviser defekt proliferativ effekt på neuregulinstimuli hevder Nebigil et al. at den G-proteinkoblede reseptoren 5-HT_{2B} virker som en kardial mitogen faktor via ErbB-2-signalveien (18). Ventrikkelveggsfortynnelsen later dermed til å være betinget i manglende proliferasjon av kardiomyocytter heller enn å være et resultat av økt apoptotisk aktivitet.



Figur 3: Histologisk analyse av neonatale hjerter viser betydelig ventrikulær hypoplasi hos homozygot 5-HT_{2B}-negative mus (-/-), sammenliknet med homozygot 5-HT_{2B}-positive mus (+/+) (18).

Voksne mutanter ble i samme studie undersøkt med langt på vei tilsvarende funn som ved neonatal alder, med vedvarende dilaterte kamre og nedsatt veggtykkelse. Hjertervekt-kroppsvekt-ratio var fortsatt signifikant nedsatt kontra kontrollgruppen, nå med 24 %. Histologi viste gjennomgående myocellulær desorganisering. Transmisjonselektronmikroskopisk undersøkelse gav et bilde av irregulær anordning av myofibriller og sarkomerer, med forkortede sarkomerer, fortykkede Z-linjer og utydelige M-linjer, uten påvisbare isotrope bånd (18).

Påfølgende år publiserte Nebigil et al. (2001) nye studieresultater hvor de undersøkte overlevende muterte mus fra ovennevnte studie (19). Gruppen fant her at alle 5-HT_{2B}-muterte mus som overlevde den første postnatale uke utviklet hjerteproblemer i voksen alder. Kardiomyocytter ble i neonatalfase vist å utgjøre 15 % mindre av totalcelleantallet hos muterte mus, og ble i tillegg målt til å ha 12 % kortere gjennomsnittslengde enn kontrollmusenes. Basert på dette konkluderes det at nedgangen i ventrikkelmasse skyldes en kombinasjon av nedsatt celletetthet og størrelse på den enkelte kardiomyocytt. Forsøk på stimulering av isolerte kardiomyocytter med β -reseptoragonisten dobutamin viste nedsatt respons sammenliknet med kontrollgruppen, hvilket indikerer en intrinsisk defekt i 5-HT_{2B}-negative kardiomyocytter. Histopatologisk ble det påvist redusert ekspresjon av

adhesjonsbelter, i form av N-kadherin og dertil gjennomgående desorganiserte innskuddsskiver.

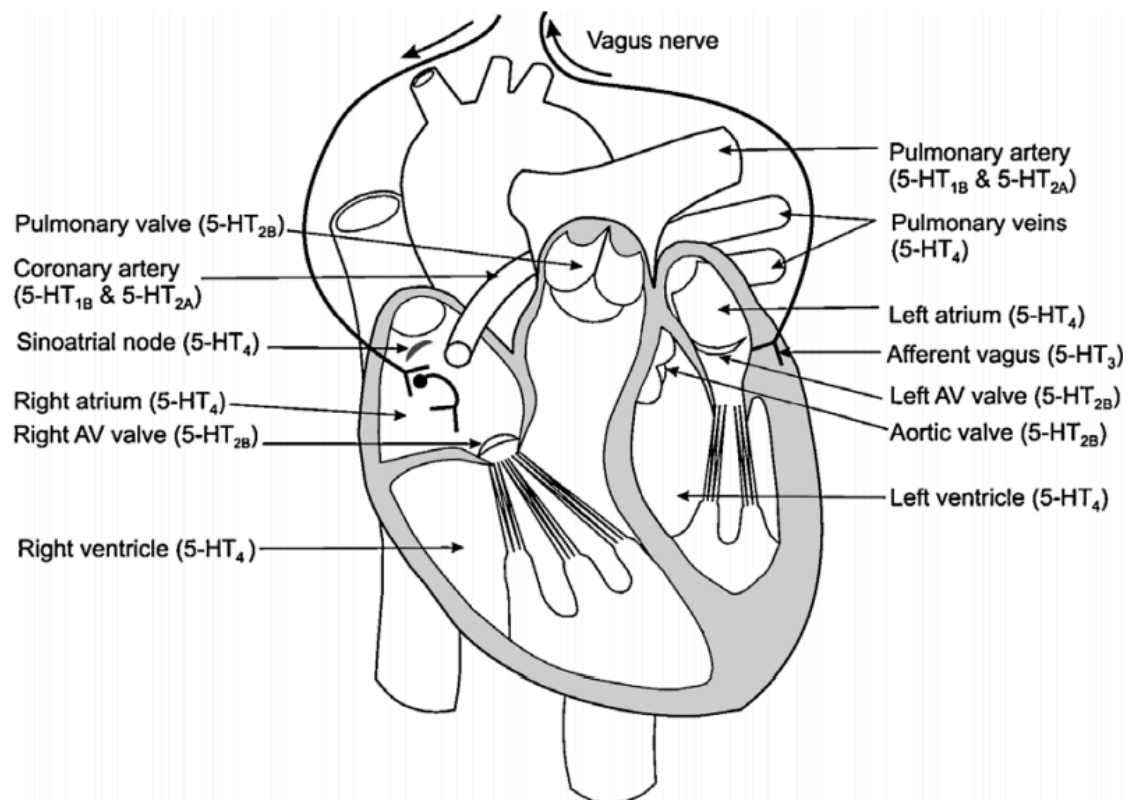
Transthoracal ekkokardiografi viste dilatasjon av venstre ventrikkel både endesystolisk og endediastolisk og påfølgende redusert systolisk funksjon hos de overlevende musene. Økt preload og biomekanisk stress på resterende hjertemuskulatur er tidligere vist å stimulere til hypertrofisk respons, men gruppen kunne ikke påvise noen økning i hypertrofiske markører eller morfologiske tegn til fysiologisk hypertrofi (19). Elektrokardiografisk kunne det ikke påvises ledningsdefekter, men sterkt forhøyet T-bølgeamplitude tyder på repolariseringsforstyrrelser, selv i fravær av avvik i serumnivåer av kalium. Særlig interessant er funnet av påfallende økte spesifikke hjertemarkører i form av troponin I og kreatinkinase-MB i serum. Det ble her oppdaget kjønnsforskjeller, med mer uttalt markørelevasjon hos mannlige mus. Dette samstemmer med resultater som viser en relativt større reduksjon i systolisk funksjon hos mannlige mutanter, hvilket kan skyldes kardioprotektive effekter hos østrogener.

Etter forsøkene med ablasjon av 5-HT_{2B}-reseptorer genererte Nebigil et al. (2003) transgene mus med overekspresjon av reseptoren i et in vivo-forsøk for videre å utrede 5-HTs patofysiologiske rolle (20). Musene presenterte seg her i mendelsk frekvens og overlevde til voksen alder, uten tegn til økt ante- eller postnatal mortalitet. Histologisk analyse av voksne mus viste en økning av venstre ventrikkels veggtykkelse, med forøket bakveggstykkelse bedømt til 28 % ved ekkokardiografi, samt en økning på 22,8 % av total venstre ventrikkelmasse sammenliknet med kontrollgruppe. Endesystoliske og endediastoliske ventrikkelvolum viste ingen signifikant forskjell, ei heller systolisk blodtrykk. Økningen i ventrikkelmasse ble ved immunocytokjemisk undersøkelse vist å skyldes en kombinasjon av hyperplasi og hypertrofi av kardiomyocytter. Økt ekspresjon av hypertrofiske gener som atrial natriuretisk faktor (ANF) og β -myosin tung kjede (β -MHC) tolkes som en direkte respons på overekspresjon av 5-HT_{2B} da det ikke finnes tegn til hemodynamisk overload. Ultrastrukturell analyse viste videre at det hos transgene mus forelå avleiring av lipider mellom kardiomyocytene. Sarkomerstrukturen var tilsynelatende normal, men det ble observert forstørrede T-tubuli og et økt antall mitokondrier, avrundede i form. Det forelå ingen holdepunkter for apoptotisk, fibrotisk eller inflammatorisk aktivitet i myokard.

I tillegg til økt proliferativ aktivitet ble det i muterte mitokondrier påvist økt aktivitet av suksinatdehydrogenase (SDH) og cytokrom c-oksidasase (COX), tegn på økt virksomhet av oksidativ fosforylering.

3. Serotonin og hjertefunksjon

Flere subtyper av 5-HT-reseptorer er påvist ved spesifikke lokalisasjoner i det humane hjertet.



Figur 4: 5-HT-reseptorer i det humane hjertet og deres lokalisasjon (15).

3.1 5-HT₄-reseptorer

5-HT₄-reseptorer med kardiostimulerende effekt er beskrevet i høyre atrium (21), venstre atrium (22), samt i både høyre og venstre ventrikkel (2). Reseptorene, som er G_S-koplede og følgelig stimulerer til økt intracellulær cAMP, foreligger i flere ulike varianter, som følge av alternativ splicing mot den C-terminale enden. Selv om det per dags dato mangler definitive data om den relative ekspresjonen av de ulike C-terminale isoformene blir det, med bakgrunn i en studie utført av Medhurst et al. (2008), antatt at 5-HT_{4(b)}-varianten er dominerende i alt humant vev, hjertet inkludert (23). Det er også påvist ekspresjon av subtypene 5-HT_{4(a)}, 5-HT_{4(g)} og 5-HT_{4(i)} i det humane hjertet (2).

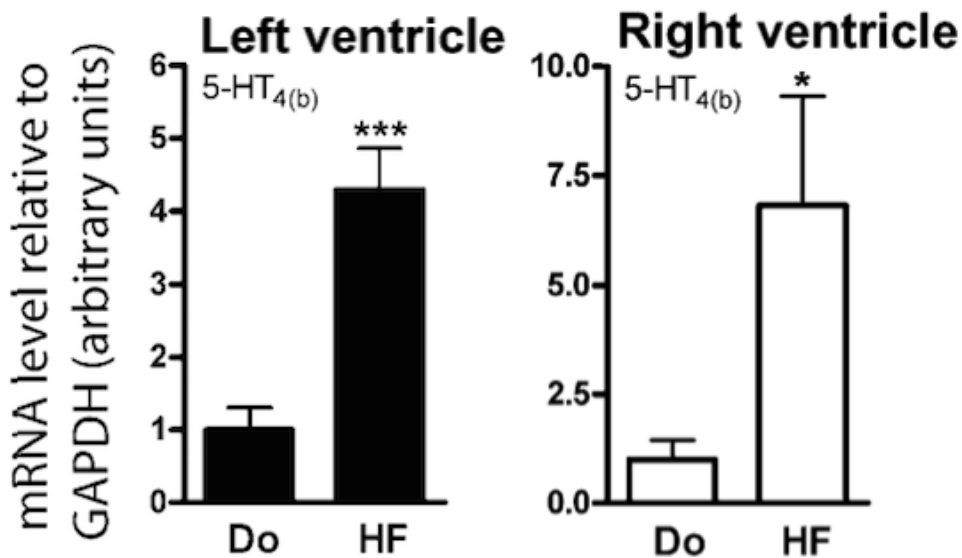
5-HT₄-reseptorer er vist å utøve kraftige kronotrope, inotrope og lusitrope effekter i menneskelige atrier (24). Disse effekter er beskrevet som virkninger av økt intracellulær cAMP, som leder til åpning av kanaler i pacemakerstrømmen funny (I_f) (25) og aktivering av L-type kalsiumstrømmen (I_{Ca,L}) (26), med påfølgende økning av intracellulær Ca²⁺-konsentrasjon. Det foreligger videre indikasjon på at den serotonininduserte aktiveringen av I_{Ca,L} vil medføre en forlengelse av det tidlige stadiet av platåfasen (APD₅₀) under repolarisering av atriene, uten å påvirke senere stadier av repolariseringen eller gi en økning av refraktærperioden (27).

Det ble tidlig påvist at serotonin kunne øke human hjertefrekvens med en doseavhengig respons og gi tachykardi (28), men den kronotrope effekten ble først tilskrevet 5-HT₄-reseptorer tidlig på 90-tallet (29, 30). Få år senere ble det publisert resultater fra in vitro-forsøk som tydet på at reseptorene også kunne ha en klinisk betydning for utvikling av arytmier, særlig i form av atrieflimmer (31, 32). Mistanken om at 5-HT₄-reseptorer kan utvise arytmogent effekt ble ytterligere styrket da det ble oppdaget at en 5-HT₄-reseptorantagonist utviste inhibitorisk aktivitet på atrieflimmer induert ved høyfrekvent pacing av høyre atrium hos unge griser (33). Hos pasienter med kronisk atrieflimmer ses et bilde med markert nedsatt ekspresjon av L-type kalsiumkanaler i atriale kardiomyocytter (34). Det sees samtidig en nedsatt mRNA-transkripsjon for flere subenheter av L-type kalsiumkanalen og for 5-HT₄-reseptoren. Dette tolkes som ledd i en atrial remodelleringsprosess hvis oppgave er å forsøke å motvirke den etablerte arytmogente effekt, her ved å senke en patologisk, og potensielt cytotoxisk, forhøyet intracellulær Ca²⁺-konsentrasjon i atriale

kardiomyocytter ved atrieflimmer. Det ble lenge tenkt at den trombogene effekten ved atrieflimmer ville gi opphav til en positiv feedback-sløyfe der 5-HT frigjørt fra trombocytter i atriale tromber bidro til fortsatt opprettholdelse av arytrogen aktivitet. Et forsøk utført av Pau et al. (2007) viser derimot at det ved kronisk atrieflimmer og gjennomgått remodelering foreligger en nedsatt effekt av 5-HT på $I_{Ca,L}$ og APD_{50} i humane atriale kardiomyocytter (35), og at en eventuell lokal økning av 5-HT dermed vil ha en langt mindre klinisk effekt enn tidligere antatt. Da 5-HT₄-stimulering heller ikke er vist å medføre noen forlengelse av refraktærperiode eller senere stadier av repolariseringen er det heller ikke sannsynlig at 5-HT bidrar til å opprettholde den arytrogene aktiviteten ved å endre den nødvendige signaldistansen som tillater re-entry. Dette samsvarer med de klinisk sparsomme bevis på 5-HT som en viktig bidragsytende faktor ved utvikling eller opprettholdelse av menneskelig atrieflimmer.

Parallelt med forskningen på og oppdagelsen av 5-HTs inotrope virkning på atriale kardiomyocytter ble det utført forsøk som forsøkte å finne en tilsvarende ventrikulær effekt av serotonin. To separate studier publisert i samme nummer av Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. i 1992 bekreftet en positiv inotrop virkning av 5-HT på humane og griseatrier, men konkluderte med at ingen tilsvarende effekt var å spore i ventriklene (36, 37). mRNA kodende for 5-HT_{4(a)}- og 5-HT_{4(b)}-reseptorer ble senere påvist i ikke-sviktende humant ventrikkelmuskard i 2000 (38). Med bakgrunn i dette funnet ble det innledet ny forskning på området med mål å revurdere effekt av stimulering av ventrikulære 5-HT₄-reseptorer, og hvorvidt det kan påvises endringer i ekspresjon av disse ved hjertesvikt. Brattelid et al. oppdaget i 2004 mRNA for reseptorisoformene 5-HT_{4(a)} og 5-HT_{4(b)} i både venstre og høyre ventrikkel i alle undersøkte hjerter i et humant pasientmateriale (n=36), med en firedoblet oppregulering av 5-HT_{4(b)}-mRNA i begge ventrikler i sviktende hjerter (2). Det ble i samme studie påvist en positiv inotrop effekt av 5-HT i trabekler fra begge ventrikler fra sviktende hjerter. Den inotrope effekten opphørte totalt ved tilsettelse av en spesifikk 5-HT₄-antagonist. Ingen endring i kontraksjonskraft ble observert i ett friskt donorhjerter. En responsforskjell avhengig av tilstedeværelse av fosfodiesteraseinhibitoren IBMX ble tolket til at fosfodiesteraser kan utøve en protektiv rolle mot serotoninindusert kardiostimulering gjennom 5-HT₄-reseptorer. Betydningen av fosfodiesteraseinhibisjon på serotoninstimulering er også vist i en senere studie, med resultater som peker på PDE3 som den viktigste regulator (39).

Av potensiell klinisk betydning er også ventrikulær arytmogen aktivitet induisert i trabekler fra 3 av 11 pasienter. Økt tendens til både ventrikulære og supraventrikulære arytmier ved oppregulering av 5-HT₄-reseptorer er siden vist i forsøk med transgene mus (40).



Figur 5: Oppregulering av 5-HT_{4(b)}-mRNA i ventrikler ved hjertesvikt, basert på data fra 20 sviktende hjerter (HF) og 5 friske donorhjerter (Do). *P<0,05; ***P<0,001 (2).

Den 5-HT-induserte kardiostimulerende effekt påvist i materialet kan in vivo gi en uønsket økning av kardialt oksygenforbruk og arytmogen tendens hos hjertesviktpasienter. Serotoninens stimulerende effekt på ventrikkelmuskulatur, som er påvist sterkt øket ved samtidig inhibisjon av fosfodiesteraser (PDE), kan dermed tenkes å forklare klinisk observerte arytmier i hjertesviktpasienter behandlet med PDE-hemmere. Det kan dermed tenkes at 5-HT₄-antagonister kan ha en plass i medikamentell behandling av hjertesvikttilstander.

I en senere studie undersøkte Qvigstad et al. (2005) papillemuskulatur fra rotter med postinfarktsvikt induisert ved koronararterieligasjon mot muskulatur fra rotter som hadde gjennomgått placebokirurgi (41). Det ble her observert positiv inotrop og lusitrop effekt av 5-HT hos rotter med hjertesvikt, men ingen påviselig effekt hos kontrollgruppen. Den inotrope effekten av 10 µM serotonin ble her målt til å være tilsvarende effekten av 10 µM isoproterenol, en potent β-adrenoceptoragonist. Det teoretiseres i artikkelen at 5-HTs ventrikulære inotropi til dels er cAMP-mediert, dette ble senere ytterligere demonstrert av Afzal et al. (2008).

Et kjennetegn ved kardial remodelering er et skifte av genekspressjon i en retning tilsvarende et føtalt genmønster (42). Dette skiftet er tenkt å reflektere en adaptiv og protektiv respons mot de patofysiologiske stimuli som nødvendigjorde remodeleringen, men vil i en del tilfeller heller utgjøre en maladaptasjon som i det lange løp vil være skadelig for organismen. Ved hjertesvikt vil remodeleringen typisk utarte seg ved et skifte fra MHC- α til den føtale isoformen MHC- β , økt ekspressjon av NPPA-genet som koder for produksjon av ANF (43) og endringer i metabolisme av fettsyrer og glukose (44). Med sammenheng i den kjente trofiske effekten av 5-HT i embryogenesen og funn av en økning i serumnivå av serotonin og oppregulering av 5-HT₄-reseptorer ved hjertesvikt er det derfor nærliggende å tenke at også 5-HT kan representere et ledd i det føtale skiftet. Brattelid et al. (2012) høstet i en studie inn hjerter fra føtale rotter (dag -3 og -1), neonatale (dag 1, 3 og 5) og voksne (dag 113) rotter, i tillegg til materiale fra infarktinduserte rotter med postinfarktsvikt (HS) og rotter som hadde gjennomgått placebokirurgi (Sham) (45). Det ble her vist at ekspressjon av 5-HT₄-mRNA sank fra dag -3 til dag 5 og nådde et minimumsnivå hos friske, voksne rotter. Hos rotter med postinfarktsvikt var mRNA-nivået åttedoblet sammenliknet med Sham-rotter. Resultatet korrelerte langt på vei med en endring i ekspressionsforholdet MHC- β / MHC- α , som kan brukes som mål på hjerteutvikling. Den 5-HT₄-medierte inotrope effekten fulgte samme fordeling, med en sterk positiv respons hos føtale og neonatale rotter og neglisjerbar effekt hos voksne dyr. Hos HS-rotter ble det sett en økt respons, svarende til nivåer observert hos neonatale. Ovennevnte funn gir ytterligere troverdighet til en teori om at økningen av s-5-HT, samt den økte ekspressjonen av 5-HT-reseptorer og deres responsivitet utgjør en komponent i hjertets remodelering mot et føtalt genmønster ved hjertesviktilstander.

3.2 5-HT_{2B}-reseptorer

5-HT_{2B}-reseptoren er som nevnt vist å ha en betydelig trofisk, mitogen og migratorisk effekt i den kardiale embryogenese. I tillegg er reseptorene funnet uttrykt på alle fire hjerteklaffer hos det voksne mennesket, og er her vist å kunne spille en viktig rolle for utvikling av valvulopatii.

Det ble på midten av 60-tallet oppdaget at en sammenheng mellom bruk av ulike ergotderiverte medikamenter mot migrene og utvikling av hjerteklaffsykdom (HKS) lik

den observert hos pasienter med karsinoid syndrom (46, 47). Det ble med bakgrunn i dette teoretisert at den sammenfallende kjemiske strukturen mellom serotonin og ergotderivativer kunne bety at det foreligger en felles patofysiologisk årsakssammenheng for den observerte valvulopati i de to gruppene. Det molekylære grunnlaget for de kliniske observasjonene ble ikke kartlagt før nærmere 30 år senere, da utvikling av tilsvarende klaffesykdom ble oppdaget hos pasienter som hadde vært behandlet med anorektikumet fenfluramin, særlig i kombinasjonspreparatet fenfluramin/phentermin («fen-phen») (48). Fenfluramin og speilbildeisomeren dexfenfluramin ble som følge av dette øyeblikkelig trukket fra det amerikanske marked (49).

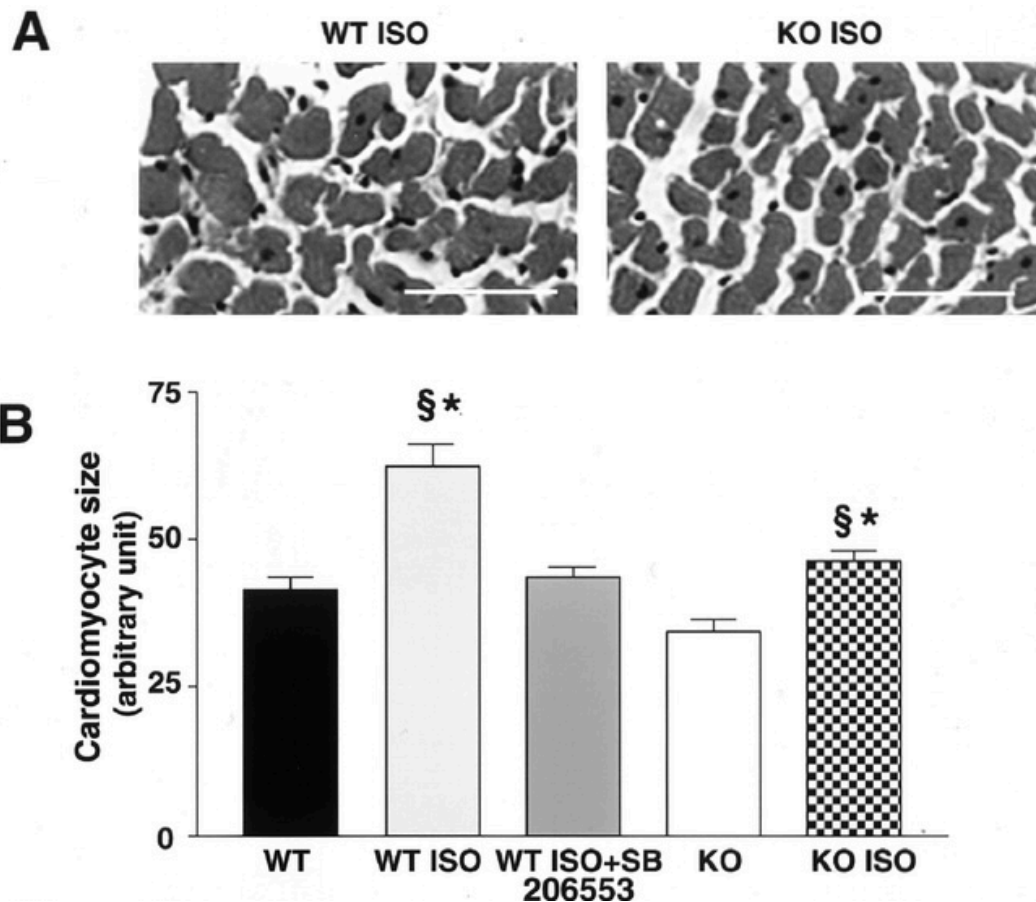
Fenfluramin virket, som ergotderivatene brukt mot migrene, ved å øke serotoninkonsentrasjonen i serum ved å øke utskillelse og hemme reopptak. Med nyoppdaget kunnskap om serotoninreseptorer ble det derfor satt i gang arbeid for å identifisere den spesifikke 5-HT-reseptoren ansvarlig for å mediere valvulopati. Fitzgerald et al. (2000) undersøkte effekt av fenfluramin, norfenfluramin og ergotderivatene ergotamin og metysergid på 5-HT₂-reseptorer og publiserte i 2000 resultater som tydet på 5-HT_{2B}-reseptoren som sannsynlig mediator (50). Resultatene ble understøttet av en samtidig utført studie der Rothman et al. (2000) screenet medikamenter med kjent eller mistenkt valvulopatisk kapasitet mot serotoninøkende medikamenter uten kjent tendens til iatrogen HKS på 11 klonede 5-HT-reseptorsubgrupper (51). Det ble her oppdaget at aktivering av 5-HT_{2B}-reseptoren var nødvendig for å kunne utvikle iatrogen serotoninindusert valvulopati.

Etter å ha fått fornyet oppmerksomhet etter fen-phen-saken ble det videre oppdaget flere serotonerge medikamenter med valvulopatiinduserende effekt. Mest omtalt av disse er sannsynlig de nonspesifikke dopaminagonistene pergolid og kabergolin, tidligere brukt i antiparkinsonistisk øyemed (52). Risiko for HKS-utvikling ble i en prevalensstudie estimert til 23,4 % ved bruk av pergolid og 28,6 % ved kabergolinbehandling (53). Et større antall medikamenter med serotonerg virkningsprofil ble på dette tidspunkt screenet for aktivitet på 5-HT_{2B}-reseptorer, og det ble påvist potent agonistisk aktivitet hos blant annet MDMA (54), antihypertensivmedikamentet guanfacin og det antiarytmiske stoffet kinidin (55). Også andre medikamenter har blitt vist å utøve agonistisk virkning på 5-HT_{2B}-reseptorer, men regnes som mindre suspekter for HKS-utvikling da de vanligvis foreskrives for kortere behandlingsperioder. Det samme rasjonalet er benyttet som

begrunnelse for at metysergid og ergotamin fremdeles er tilgjengelige i henholdsvis migreneprofylaktisk og anfallskuperende øyemed på det amerikanske marked (56).

Serotoninindusert valvulopati manifesterer seg makroskopisk som fortykkelse og avstivning av klaffebladene (57). Med dette svekkes hjerteklaffenes evne til å opprettholde direksjonalitet av blodstrømmen. På cellulært nivå mistenkes det at klaffeavstivningen skyldes økt aktivering og hyperplasi av interstitielle celler i klaffene, med et skifte mot myofibroblastfenotyper (58, 59). Myofibroblastene vil ved aktivering svare med økt avleiring av ekstracellulær matriks, hvilket gir nedsatt bevegelighet av de enkelte klaffeblader. Dette gir seg særlig utslag i utvikling av klaffeinsuffisiens.

5-HT_{2B}-reseptoren er ikke bare viktig for utvikling av hjerteklaffpatologi, men bidrar også til tilsvarende forandringer i ventriklene. Jaffré et al. viste i 2004 at mus utvikler ventrikulær hypertrofi ved kontinuerlig infusjon av isoproterenol, men at denne forandringen bortfaller ved samtidig eksponering mot en 5-HT_{2B}-reseptorantagonist (SB-206553) og hos 5-HT_{2B}-knockoutmus (60). Studien påviste samtidig en signifikant reduksjon i plasmanivåer av de hypertrofiske cytokinene TNF- α og IL-1 β hos 5-HT_{2B}-blokkerte mus. I en nyere studie viste Jaffré et al. (2009) at mus som kun uttrykker 5-HT_{2B}-reseptorer på kardiomyocytter, og ikke på nonkardiomyocytter, er immune mot isoproterenolmediert kardial hypertrofi og cytokinproduksjon, på lik linje med globale 5-HT_{2B}-knockoutmus (61). Disse resultatene peker på nonkardiomyocytter, potensielt myofibroblaster, som essensielle for utviklingen av hypertrofi. Studien undersøkte også 5-HT_{2B}-ekspresjon i biopsert materiale fra human venstre ventrikel hos pasienter med etablert hjertesvikt og en frisk kontrollgruppe. Det ble her vist en signifikant økt ekspresjon i sviktende hjerter, tilsynelatende uavhengig av kardiomyopatiens etiologi, alvorlighet eller behandling. Det ble derimot observert en signifikant korrelasjon mellom 5-HT_{2B}-ekspresjon og ovennevnte cytokiner.



Figur 6: Representative histologiske snitt fra venstre ventrikler hos voksne mus, behandlet med isoproterenol (ISO) (A). Det sees utstrakt hypertrofi hos villtypemus (WT) mot tilnærmet normal kardiomyocytstruktur hos 5-HT_{2B}-knockoutmus (KO). Skjematisk fremstilling viser en signifikant reduksjon av isoproterenolindusert hypertrofi (B) hos knockoutmus og ved eksponering mot en 5-HT_{2B}-antagonist (SB-206553). *P<0,05 mot KO; §P<0,05 mot WT (60).

Det histopatologiske bildet ved kardial hypertrofi vil typisk være et hvor det sees tap av kardiomyocytter, samt en økning av interstitielle fibroblaster og kollagenavleiring (62). Dette antas å gi utslag i form av nedsatt kontraktilitet og vevsperfusjon, men forholdet mellom grad av fibrosering og kontraktilitet er ennå ikke tilstrekkelig avklart (63).

4. Mulige farmakologiske anvendelser

Med økende evidens for serotonin som bidragsyter til utvikling av hjertesvikt ble det naturlig å tenke på serotoninblokkade som et potensielt farmakologisk

angrepspunkt i behandlingen av hjertesvikt. Behandlingen ved hjertesvikt har i moderne tid gjennomgått store forandringer, og der det tidligere var den hemodynamiske balanse som stod sentralt i behandlingsprinsippet har denne i stor grad måttet vike for prinsippet om korreksjon av maladaptive nevrohormonelle endringer (64). På dette rasjonalet har ACE-hemmere og β -blokkere blitt grunnleggende elementer i dagens farmakologiske behandling av tilstanden. 5-HT har som nevnt blitt vist å ha en rolle i myokardial remodelering, liknende den mediert gjennom renin-angiotensin-aldosteron-sløyfen og β -adrenerge reseptorer. Betyr dette at 5-HT-antagonister også kan ha en plass i den medikamentelle behandlingen?

Birkeland et al. (2007) fordelte i en studie rotter til enten placebokirurgi eller infarktinduserende kirurgi med påfølgende utvikling av postinfarktsvikt (65). Rotter fra begge grupper ble deretter fordelt til å motta behandling med en selektiv 5-HT₄-agonist (piboserod) eller placebo i seks uker. Hos sviktinduserte rotter behandlet med 5-HT₄-blokkade observerte man bedret diastolisk funksjon i venstre ventrikkel, vist ved 4,6 % lavere diastolisk ventrikkeldiameter og 24,2 % lavere mitralstrømsdeselerasjon enn hos sviktinduserte rotter som hadde mottatt placebo. Systolisk ventrikkeldiameter var nedsatt med 6,1 % hos intervensjonsgruppen, og det ble videre funnet nonsignifikant lavere venstre atriumsdiameter og økt fractional shortening (FS) hos denne, et bilde tegnende på bedret systolisk funksjon. Mangelen på signifikante forskjeller hos placeboopererte rotter ved ultralyd indikerer at piboserod ikke utøver betydelig effekt på friske hjerters funksjon in vivo.

Ved infusjon av isoproterenol så man en effektøkning på 36 % på inotrop respons hos de sviktrottene behandlet med piboserod, tydende på en delvis normalisering av kontraktil respons av betastimulering. RT-PCR-påvisning av ekspresjon av gener tilhørende det tidligere omtalte føtale genmønster viste i piboserodbehandlede sviktende hjerter konsistente, dog statistisk insignifikante, resultater pekende mot en normalisering av genekspressjon.

Studien konkluderer med at flere av de avdekkede resultatene peker mot at 5-HT₄-antagonisme kan forbedre hjertefunksjon ved postinfarktsvikt, men påpeker samtidig at den påviste effekten er relativt begrenset. Reduksjon i venstre ventrikkeldiameter fremstår som det eneste effektbevis på systolisk funksjon, mens reduksjonen av mitralstrømsdeselerasjon indikerer forbedring av diastolisk funksjon. Enkelte ekkokardiografiske funn samstemmer med teorien om at 5-HT₄-blokkade vil motvirke

kardial remodellering. Det er i kliniske studier vist at remodellering etter gjennomgått myokardielt infarkt utviser korrelasjon med svekkelse av prognose (66). Birkeland et al. mener med bakgrunn i dette at 5-HT₄-antagonisme kan vise seg formålstjenlig ved postinfarktsvikt, men understreker at det krever flere studier for å verifisere dette (65).

Det ble i 2009 publisert resultater fra en dobbeltblindet klinisk effektstudie av piboserod på 137 pasienter med kronisk hjertesvikt og venstreventrikulær EF ≤ 0,35 (67). Studien strakk seg over 24 behandlingsuker, hvor man de fire første ukene titrerte piboserod opp til en dose på 80 mg. Effekt ble målt ved endring i venstre ventrikkels funksjon, med primært endepunkt ejeksjonsfraksjon (EF) og ventrikkelvolum, pro-BNP, noradrenalin, 6 minutter gangtest og livskvalitet som sekundære endepunkter. Sammenliknet med placebo så man en signifikant økning av EF på 1,7 % hos intervensjonsgruppen. Effekten ble ytterligere forsterket i en liten subgruppe pasienter som ikke stod på β-blokkere, EF var her økt med 2,7 %. Det ble ikke observert noen signifikant forskjell mellom gruppene for noen av de sekundære endepunktene. Forekomsten av uønskede effektutfall var større i intervensjonsgruppen enn i kontrollgruppen. Resultatene ble også her ansett som inkonklusive, men det poengteres at en moderate bedring av EF ikke direkte kan oversettes til forbedret prognose ved kronisk hjertesvikt.

Det har ikke tilkommet nye kliniske studier rundt effekt av 5-HT₄-blokade siden 2009, og det kan se ut til at tanken på farmakologisk behandling sentrert rundt denne for øyeblikket er satt på vent.

Også 5-HT_{2B}-reseptoren har vært et tema for mulig farmakologisk behandling, og antagonisme mot denne har vært tenkt benyttet ved både valvulopati og ventrikulær hypertrofi. Cyproheptadin, en antihistamin og 5-HT₂-antagonist, ble i en rottestudie vist ekkokardiografisk og histopatologisk delvis å motvirke pergolidindusert valvulopati (68). Det ble her observert en reduksjon i insidens av aortainsuffisiens hos den cyproheptadinbehandlede gruppen, men ingen signifikant nedgang av annen klaffepatologi. Både mitral- og aortaklaffer fremstod histopatologisk som mindre fortykkede enn hos kontrollgruppen, tydende på en nedsatt tendens til fibroblastmediert avleiring av ekstracellulær matriks. Uten å bidra med konklusive bevis støtter også en artikkel tilskrevet Hofmann et al. (2006) opp under dette (69).

Det ble her konkludert med at lisurid, en dopaminagonist med kjent antagonistisk virkning på 5-HT_{2B} var blitt benyttet klinisk i over 30 år (estimert til 360 000 pasientår) uten et eneste rapportert tilfelle av hjerteklaffsykdom. Dette er ikke ensbetydende med at lisurid forhindret valvulopati hos pasientene, men en reduksjon fra bakgrunnsrisiko hos en populasjon av denne størrelsen kan være et tegn på en klaffeprotektiv effekt. Da det per dags dato ikke foreligger medikamenter med beviselig klaffeprotektiv effekt foreligger det et klart insentiv for videre studier som kan klarlegge potensiell behandlingsgevinst ved 5-HT_{2B}-antagonisme.

5-HT_{2B}-reseptorblokkade har eksperimentelt også blitt demonstrert å motvirke både angiotensin-II- og β -adrenerg industert kardial hypertrofi av venstre ventrikkel vist ved reduksjon av hypertrofiske markører hos mus (70). Selektiv blokkering av 5-HT_{2B}-reseptoren viste i denne studien å hemme en økning i reaktive oksygenforbindelser forbundet med utvikling av hypertrofi. Det ble ikke notert noen uønskede hemodynamiske bivirkninger ved blokaden.

Tilsvarende resultater ved 5-HT_{2B}-reseptorblokkade er også observert for høyre ventrikkel (71). Mus med industert høyresidig hjertesvikt ble behandlet med en kombinert 5-HT_{2A}-/5-HT_{2B}-reseptorblokker eller en spesifikk 5-HT_{2B}-reseptorblokker. Etter en 14 dagers behandlingskur ble det i begge de to intervensjonsgruppene sett en reduksjon i ventrikulær fibrosering, samt bedret hjertefunksjon i form av kontraktilitet sammenliknet med kontrollgruppen.

5. Diskusjon

Fra tidligere å være ansett som lite annet enn en positiv kronotrop har man i løpet av de siste 25 år fått en langt mer utstrakt forståelse av serotonins effekt på et vidt spenn av kardiale funksjoner.

Gjennom forsøk på knockoutmus er 5-HT_{2B}-reseptoren vist å være sterkt assosiert med normal kardial embryogenese, med signifikante utfall i mortalitet både

intrauterint og neonatalt hos dyr uten ekspresjon av reseptoren (18). Den økte mortaliteten later til å være multifaktoriell, med flere påviste hjerteabnormaliteter, deriblant betydelige trabekuleringsdefekter og ventrikkelveggshypoplasi med påfølgende myokardruptur. Hos 5-HT_{2B}-manglende mus overlevende til voksen alder ble det histopatologisk demonstrert bilateral ventrikkeldilatasjon, ventrikulær hypoplasi og desorganisering av myofibriller og sarkomerer, med et strukturelt bilde tilsvarende det kardiomyopatiske (19).

Fra å være uten kjent effekt på det kardiovaskulære system ble det på kort tid klarlagt en rekke kardiale virkninger ved stimulering av 5-HT₄-reseptoren (24). Serotonins kronotrope effekt var det første som ble tilskrevet disse reseptorer (29, 30), før et arytmogent potensiale ble attribuert dem kort tid senere (31, 32). 5-HT₄-reseptorene var lenge antatt å være isolert til atrier, men ble etter hvert også påvist i friske humane ventrikler, hvor de ble funnet å utøve en inotrop effekt (38). Etter først å ha blitt oppdaget hos hjertefriske individer, ble det senere funnet en betydelig oppjustert ekspresjon av 5-HT₄-reseptorer i sviktende ventrikler (2). Videre studier viste at mRNA-nivåer for reseptoren i sviktende hjerter langt på vei korrelerer med nivåer sett i det føtale liv, og man antar i dag at 5-HT₄-reseptorer oppreguleres og deres inotrope effekt styrkes som et ledd i en kardial remodelleringsprosess ved etablert hjertesvikt (45). Slik remodellering er kjent å medføre maladaptive og ugunstige effekter på lengre sikt, og man så her et potensielt fremtidig farmakologisk angrepspunkt i hjertesviktbehandling.

5-HT_{2B}-reseptorer kom på den kardiologiske dagsorden da det ble oppdaget at ergotderivativer og fenfluramin bidro til utvikling av valvulopatii hos en rekke pasienter gjennom stimulering av disse reseptorene (46, 47, 48). Det er siden blitt oppdaget flere medikamenter som medfører risiko for hjerteklaffsykdom, deriblant dopaminagonister brukt som antiparkinsonistika (52). Valvulopati manifesterer seg som fortykkelse og avstiving av klaffebleder, antakelig grunnet hyperplasi av interstitielle celler i klaffene, med et skifte mot ekspresjon av myofibroblaster, og økt deponering av ekstracellulær matrix (58, 59).

5-HT_{2B}-reseptorer er også vist å besitte en rolle ved utvikling av ventrikulær patologi. 5-HT_{2B}-stimulering medfører økt sekresjon av hypertrofiske cytokiner fra ventrikulære fibroblaster, og gir følgelig opphav til ventrikulær hypertrofi (60, 61). Ventrikulær hypertrofi er igjen assosiert med tap av kardiomyocytter og økt

ekspresjon av fibroblaster, som avleirer kollagen i myokard (62). Dette vil gi en avstivning av ventrikkelveggen med nedsatt kontraktilitet, disponerende til utvikling av manifest hjertesvikt.

Basert på observerte effekter av serotonin på kardialt vev er det gjort studier som har forsøkt å vise effekt ved spesifikk 5-HT-reseptorblokade. Studier, hovedsakelig utført på mus eller rotter, gav indikasjon om 5-HT₄ som et mulig ledd i uhensiktsmessige remodelleringsprosesser i sviktende hjerter, hvilket gav opphav til optimisme rundt 5-HT₄-antagonisme som mulig behandling. Det ble basert på dette utført en eksperimentell studie av spesifikk 5-HT₄-blokade på sviktinduserte rotter som viste en viss effekt av behandling, dog av begrenset art (65). Disse resultatene ble understøttet av en dobbelblindet klinisk effektstudie på en human populasjon (67). Man så her en begrenset, dog signifikant, bedring i ejsjonsfraksjon ved behandling med piboserod, men det ble ikke observert noen gruppeforskjell for noen andre endepunkter. Resultatene gir med dette tegn på dårligere respons ved 5-HT₄-antagonisme enn ved bruk av β-blokkere eller blokade av angiotensinløyfen ved hjertesvikt. Da alvorlige adverse effekter i form av blant annet sviktforverring, arytmier og uspesifikk nyre- og lungesykdom var overrepresentert hos intervensjonsgruppen konkluderes det med at piboserod virker å ha begrenset nytte ved bruk mot hjertesvikt, enda 5-HT₄-antagonisme innehar en teoretisk nytteverdi.

Studier på effekt av 5-HT_{2B}-antagonisme har gitt resultater som peker på en noe bedre behandlingsrespons. Det er blitt observert en signifikant protektiv effekt mot pergolidindusert aortainsuffisiens ved behandling med cypropheptadin (68). Annen klaffepatologi kunne ikke bevises redusert, men en retrospektiv populasjonsstudie peker på en sannsynlig generalisert klaffeprotektiv effekt ved bruk av lisurid, en dopaminagonist med selektiv 5-HT_{2B}-antagonistisk virkning (69). 5-HT_{2B}-blokade er også vist å redusere hypertrofi av høyre ventrikkel, med reduksjon av ventrikulær fibrose og bedret kontraktilitet (71). Ingen studier har bevist tilsvarende effekt på venstre ventrikkel, men det foreligger indirekte bevis gjennom reduksjon av hypertrofiske markører (70). Det foreligger per dags dato ingen randomiserte kontrollerte forsøk av effekt av 5-HT_{2B}-antagonisme ved menneskelig hjertesvikt. Ovennevnte resultater kan dermed ikke overføres til å garantere klinisk effekt i en human populasjon, men foreløpige funn gir indikasjon på at gjennomførelse av RCT-

er på en human populasjon kan vurderes, da det teoretiske grunnlaget antyder en potensiell behandlingsgevinst.

De aller fleste studier utført omkring serotoninens kardiale effekter er eksperimentelle forsøk utført på mus eller rotter i hypotesetestende hensikt. Resultater fra disse forsøkene har konsekvent vist mer uttalt serotoninrespons enn hva som er funnet i forsøk på humane cellekulturer, hvilket avspeiles i beskjeden behandlingsgevinst i piboserod-studien (67). Funnene reflekteres også i tidligere utførte forsøk hvor det er observert mer fremtredende respons hos mindre dyrearter enn i humane forsøk. Dette kan tolkes til at etiologien bak human kardial sykdom avhenger av flere signalmekanismer, slik at studier rettet mot enkeltårsaker vil resultere i mer beskjedne målbare utfall.

En annen medvirkende faktor til observerte responsforskjeller kan iboende i studiedesignen. Dyreforsøk vil bestandig være mer kontrollerte enn hva man vil kunne oppnå i forsøk på mennesker. Dette vil nødvendigvis gi mindre spredning i data i dyreforsøk, mens en større spredning i humane forsøk vil vanskeliggjøre oppgaven med å detektere faktiske forskjeller.

6. Konklusjon

Serotonin er vist å spille en rolle i en rekke patofysiologiske kardiale prosesser gjennom virkning på ulike serotoninreseptorer. På nåværende tidspunkt har det ikke blitt funnet noen rolle for serotoninantagoniserende medikamenter i klinisk praksis ved behandling av de assosierte hjertesykdommer. Foreløpige funn gir dog anledning til å tenke at videre studier på 5-HT_{2B}-antagonisme kan avdekke et mulig klaffeprotektivt potensial, som eventuelt kan utnyttes i klinisk praksis.

Litteraturliste

1. 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(7):902-08.
2. Brattelid T, Qvigstad E, Lynham J et al. Functional serotonin 5-HT₄ receptors in porcine and human ventricular myocardium with increased 5-HT₄ mRNA in heart failure. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2004;370(3):157-66.
3. MacLean MR, Dempsey Y. The serotonin hypothesis of pulmonary hypertension revisited. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2010;661:309-22.
4. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD et al. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2016;18(8):891-975.
5. Folkehelseinstituttet. (2015). Hjerte- og karregisteret, rapport fra 2014. Hentet fra https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/hjertekarrapport-arsrapport-for-2015_010716.pdf
6. Grundtvig M, Mo R, Slind EK et al. Norsk hjertesviktregister, årsrapport 2014. Hentet fra https://www.kvalitetsregistre.no/sites/default/files/http://www.kvalitetsregistre.no/getfile.php/Norsk/Bilder/Offentliggj-C3-B8ring-2015/-C3-rsrapport-2014_Hjertesvikt-NY.pdf
7. Gullestad L. Hjertesvikt. Hva er nytt? *Indremedisinen*. 2015;27(3):8-11.
8. Rapport MM, Green AA, Page IH. Serum vasoconstrictor (serotonin): IV. Isolation and characterization. *The Journal of Biological Chemistry*. 1948;176(3):1243-51.
9. Göthert M. Serotonin discovery and stepwise disclosure of 5-HT receptor complexity over four decades. Part I. General background and discovery of serotonin as a basis for 5-HT receptor identification. *Pharmacological Reports*. 2013;65(4):771-86.
10. Berger M, Gray JA, Roth, BL. The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*. 2009;60:355-66.
11. Malenka RC, Nestler EJ, Hyman SE (2009). *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience* (2nd ed.). NY: McGraw-Hill Medical.
12. Kroeze WK, Sheffler DJ, Roth BL. G-protein-coupled receptors at a glance. *Journal of Cell Science*. 2003;116:4867-69.
13. Marinissen MJ, Gutkind JS. G-protein-coupled receptors and signaling networks: Emerging paradigms. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2001;22(7):368-76.
14. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR et al. International union of pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacological Reviews*. 1994;46(2):157-203.
15. Kaumann AJ & Levy FO. 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Pharmacology & Therapeutics*. 2006;111(3):674-706.
16. Choi DS, Maroteaux L. Immunohistochemical localisation of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in mouse gut, cardiovascular system, and brain. *FEBS Letters*. 1996;391(1-2):45-51.
17. Yavarone MS, Shuey DL, Tamir H et al. Serotonin and cardiac morphogenesis in the mouse embryo. *Teratology*. 1993;47(6):573-84.

18. Nebigil CG, Choi DS, Dierich A et al. Serotonin 2B receptor is required for heart development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(17):9508-13.
19. Nebigil CG, Hickel P, Messaddeq N et al. Ablation of serotonin 5-HT_{2B} receptors in mice leads to abnormal cardiac structure and function. *Circulation*. 2001;103(24):2973-79.
20. Nebigil CG, Jaffré F, Messaddeq N et al. Overexpression of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in heart leads to abnormal mitochondrial function and cardiac hypertrophy. *Circulation*. 2003;107(25):3223-29.
21. Kaumann AJ, Sanders L, Brown AM et al. A 5-hydroxytryptamine receptor in human atrium. *British Journal of Pharmacology*. 1990;100(4):879-85.
22. Sanders L & Kaumann AJ. A 5-HT₄-like receptor in human left atrium. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1992;345(4):382-86.
23. Medhurst AD, Lezoualc'h F, Fischmeister R et al. Quantitative analysis of five C-terminal splice variants of the human 5-HT₄ receptor in the central nervous system by TaqMan real time RT-PCR. *Molecular Brain Research*. 2001;90(2):125-34.
24. Castro L, Mialet-Perez J, Guillemeau et al. Differential function of two 5-HT₄ receptor isoforms in adult cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2005;39(2):335-44.
25. Pino R, Cerbai E, Calamai G et al. Effect of 5-HT₄ receptor stimulation on the pacemaker current I_f in human isolated atrial myocytes. *Cardiovascular Research*. 1998;40(3):516-22.
26. Ouadid H, Seguin J, Dumuis A et al. Serotonin increases calcium current in human atrial myocytes via the newly described 5-hydroxytryptamine₄ receptors. *Molecular Pharmacology*. 1992;41(2):346-51.
27. Pau D, Workman AJ, Kane KA, Rankin AC. Electrophysiological effects of 5-hydroxytryptamine on isolated human atrial myocytes, and the influence of chronic β -adrenoceptor blockade. *British Journal of Pharmacology*. 2003;140(8):1434-41.
28. Le Messurier DH, Schwartz CJ & Whelan RF. Cardiovascular effects of intravenous infusions of 5-hydroxytryptamine in man. *British Journal of Pharmacology*. 1959;14(2):246-50.
29. Kaumann AJ. 5-HT₄-like receptors in mammalian atria. *Journal of Neural Transmission Supplementum*. 1991;34:195-201.
30. Medhurst AD & Kaumann AJ. Characterization of the 5-HT₄ receptor mediating tachycardia in piglet isolated right atrium. *British Journal of Pharmacology*. 1993;110(3):1023-30.
31. Kaumann AJ. Do human atrial 5-HT₄ receptors mediate arrhythmias? *Trends in Pharmacological Sciences*. 1994;15(12):451-55.
32. Kaumann AJ, Sanders L. 5-hydroxytryptamine causes rate-dependent arrhythmias through 5-HT₄ receptors in human atrium: Facilitation by chronic beta-adrenoceptor blockade. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1994;349(4):331-37.
33. Rahme MM, Cotter B, Leistad E et al. Electrophysiological and antiarrhythmic effects of the atrial selective 5-HT₄ receptor antagonist RS-100302 in experimental atrial flutter and fibrillation. *Circulation*. 1999;100(19):2010-17.
34. Grammer JB, Zeng X, Bosch RF, Kühlkamp V. Atrial L-type Ca²⁺ channel, β -adrenoreceptor, and 5-hydroxytryptamine type 4 receptor mRNAs in human atrial fibrillation. *Basic Research in Cardiology*. 2001;96(1):82-90.

35. Pau D, Workman AJ, Kane KA, Rankin AC. Electrophysiological and arrhythmogenic effects of 5-hydroxytryptamine on human atrial cells are reduced in atrial fibrillation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2007;42(1):54-62.
36. Jahnel U, Rupp J, Ertl R, Nawrath H. Positive inotropic response to 5-HT in human atrial but not in ventricular heart muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1992;346(5):482-85.
37. Schoemaker RG, Du XY, Bax WA, Saxena PR. 5-hydroxytryptamine increases contractile force in porcine right atrium but not in left ventricle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1992;346(5):486-89.
38. Bach T, Syversveen T, Kvingedal AM et al. 5-HT_{4(a)} and 5-HT_{4(b)} receptors have nearly identical pharmacology and are both expressed in human atrium and ventricle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2001;363(2):146-60.
39. Afzal F, Andressen KW, Mørk HK et al. 5-HT₄-elicited positive inotropic response is mediated by cAMP and regulated by PDE3 in failing rat and human cardiac ventricles. *British Journal of Pharmacology*. 2008;155(7):1005-14.
40. Gergs U, Baumann M, Böckler A et al. Cardiac overexpression of the human 5-HT₄ receptor in mice. *The American Journal of Physiology: The American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. *Circulatory Physiology*. 2010;299(3):H788-98.
41. Qvigstad E, Brattelid T, Sjaastad I et al. Appearance of a ventricular 5-HT₄ receptor-mediated inotropic response to serotonin in heart failure. *Cardiovascular Research*. 2005;65(4):869-78.
42. Taegtmeyer H, Sen S, Vela D. Return to the fetal gene program: A suggested metabolic link to gene expression in the heart. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1188:191-98.
43. Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: Molecular studies of an adaptive physiological response. *The FASEB Journal*. 1991;5(15):3037-46.
44. Sack MN, Rader TA, Park S et al. Fatty acid oxidation enzyme gene expression is downregulated in the failing heart. *Circulation*. 1996;94(11):2837-42.
45. Brattelid T, Qvigstad E, Moltzau LR et al. The cardiac ventricular 5-HT₄ receptor is functional in late foetal development and is reactivated in heart failure. *PLoS One*. 2012;7(9):e45489-10.1371/journal.pone.0045489
46. Graham JR, Suby HI, LeCompte PR, Sadowsky NL. Fibrotic disorders with methysergide therapy for headache. *The New England Journal of Medicine*. 1966;274(7):359-68.
47. Graham JR. Cardiac and pulmonary fibrosis during methysergide therapy for headache. *American Journal of the Medical Sciences*. 1967;254(1):1-12.
48. Connolly HM, Crary JL, McGoon MD et al. Valvular heart disease associated with fenfluramine-phentermine. *The New England Journal of Medicine*. 1997;337(9):581-88.
49. U.S. Food and Drug Administration. (1997). FDA announces withdrawal fenfluramine and dexfenfluramine (fen-phen). Hentet fra <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm179871.htm>.
50. Fitzgerald LW, Burn TC, Brown BS et al. Possible role of valvular serotonin 5-HT_{2B} receptors in the cardiopathy associated with fenfluramine. *Molecular Pharmacology*. 2000;57(1):75-81.

51. Rothman RB, Baumann MH, Savage JE et al. Evidence for possible involvement of 5-HT_{2B} receptors in the cardiac valvulopathy associated with fenfluramine and other serotonergic medications. *Circulation*. 2000;102(23):2836-41.
52. Schade R, Andersohn F, Suissa S et al. Dopamine agonists and the risk of cardiac-valve regurgitation. *The New England Journal of Medicine*. 2007;356(1):29-38.
53. Zanettini R, Antonini A, Gatto G et al. Valvular heart disease and the use of dopamine agonists for Parkinson's disease. *The New England Journal of Medicine*. 2007;356(1):39-46.
54. Setola V, Hufeisen SJ, Grande-Allen KJ et al. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") induces fenfluramine-like proliferative actions on human cardiac valvular interstitial cells in vitro. *Molecular Pharmacology*. 2003;63(6):1223-29.
55. Huang XP, Setola V, Yadav PN et al. Parallel functional activity profiling reveals valvulopathogens are potent 5-hydroxytryptamine_{2B} receptor agonists: Implications for drug safety assessment. *Molecular Pharmacology*. 2009;76(4):710-22.
56. Bhattacharyya S, Schapira AH, Mikhailidis DP, Davar J. Drug-induced fibrotic valvular heart disease. *The Lancet*. 2009;374(9689):577-85.
57. Hutcheson JD, Setola V, Roth BL, Merryman WD. Serotonin receptors and heart valve disease – It was meant 2B. *Pharmacology & Therapeutics*. 2011;132(2):146-57.
58. Rabkin E, Aikawa M, Stone JR et al. Activated interstitial myofibroblasts express catabolic enzymes and mediate matrix remodeling in myxomatous heart valves. *Circulation*. 2001;104(21):2525-32.
59. Rabkin-Aikawa E, Farber M, Aikawa M, Schoen FJ. Dynamic and reversible changes of interstitial cell phenotype during remodeling of cardiac valves. *The Journal of Heart Valve Disease*. 2004;13(5):841-47.
60. Jaffré F, Callebert J, Sarre A et al. Involvement of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in cardiac hypertrophy linked to sympathetic stimulation: Control of interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α cytokine production by ventricular fibroblasts. *Circulation*. 2004;110(8):969-74.
61. Jaffré F, Bonnin P, Callebert J et al. Serotonin and angiotensin receptors in cardiac fibroblasts coregulate adrenergic-dependent cardiac hypertrophy. *Circulation Research*. 2009;104(1):113-23.
62. Shyu KG. Serotonin 5-HT_{2B} receptor in cardiac fibroblast contributes to cardiac hypertrophy: A new therapeutic target for heart failure?. *Circulation Research*. 2009;104(1):1-3.
63. Knaapen P, Götte MJ, Paulus WJ et al. Does myocardial fibrosis hinder contractile function and perfusion in idiopathic dilated cardiomyopathy? PET and MR imaging study. *Radiology*. 2006;240(2):380-88.
64. Bristow MR. β -adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation*. 2000;101(5):558-69.
65. Birkeland JAK, Sjaastad I, Brattelid T et al. Effects of treatment with a 5-HT₄ receptor antagonist in heart failure. *British Journal of Pharmacology*. 2007;150(2):143-52.
66. White HD, Norris RM, Brown MA et al. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation*. 1987;76(1):44-51.

67. Kjekshus JK, Torp-Pedersen C, Gullestad L et al. Effect of piboserod, a 5-HT₄ serotonin receptor antagonist, on left ventricular function in patients with symptomatic heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2009;11(8):771-78.
68. Droogmans S, Roosens B, Cosyns B et al. Cypropheptadine prevents pergolide-induced valvulopathy in rats: An echocardiographic and histopathological study. *The American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology*. 2009;296(6):H1940-48.
69. Hofmann C, Penner U, Dorow R et al. Lisuride, a dopamine receptor agonist with 5-HT_{2B} receptor antagonist properties: Absence of cardiac valvulopathy adverse drug reaction reports supports the concept of a crucial role for 5-HT_{2B} receptor agonism in cardiac valvular fibrosis. *Clinical Neuropharmacology*. 2006;29(2):80-86.
70. Monassier L, Laplante MA, Jaffré F et al. Serotonin 5-HT_{2B} receptor blockade prevents reactive oxygen species-induced cardiac hypertrophy in mice. *Hypertension*. 2008;52(2):301-07.
71. Janssen W, Schymura Y, Novoyatleva T et al. 5-HT_{2B} receptor antagonists inhibit fibrosis and protect from RV heart failure. *BioMed Research International*, vol. 2015. Article ID 438403, 1-9.