

Received: 2013.10.14
Accepted: 2014.04.03
Published: 2014.06.06

Teoria serotoninowa a tętnicze nadciśnienie płucne*

Serotonin hypothesis and pulmonary artery hypertension

Monika Kloza¹, Marta Baranowska-Kuczko^{1,2}, Anna Pędzińska-Betiuk¹,
Konrad Jackowski¹, Hanna Kozłowska¹

¹Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

²Zakład Farmacji Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Streszczenie

Tętnicze nadciśnienie płucne jest postępującą chorobą, prowadzącą do niewydolności prawej komory serca i przedwczesnej śmierci. Charakteryzuje się podwyższonym ciśnieniem w tętnicy płucnej, zwiększeniem oporu naczyniowego, przebudową naczyń płucnych oraz dysfunkcją śródbłónka. Patomechanizm tej choroby jest wciąż nieznan. Sugeruje się, że dysfunkcja śródbłónka zaburza równowagę między czynnikami wazodylatacyjnymi a wazokonstrykcyjnymi, w tym np. serotoniną (5-HT). Pierwotnie teorię serotoninową tętniczego nadciśnienia płucnego powiązano z przyjmowaniem leków anoreksygennych, pochodnych fenfluraminy, hamujących wychwyt zwrotny 5-HT. Obecnie potwierdzono zaangażowanie wszystkich składowych układu serotoninergicznego w krążeniu płucnym w tym patomechanizm. W komórkach śródbłónka tętnicy płucnej, hydroksylaza tryptofanu 1 katalizuje reakcję syntezy serotoniny z tryptofanu. 5-HT kurczy naczynia płucne przez pobudzenie receptorów serotoninowych, głównie 5-HT1B i 5-HT2A, a także jest transportowana przez transporter serotoniny (SERT) do wnętrza komórki mięśni gładkich tętnicy płucnej, a następnie działając przez kinazę Rho (ROCK) lub reaktywne formy tlenu powoduje skurcz naczyń i/lub wzrost aktywacji czynników transkrypcyjnych i proliferację. Potwierdzono interakcję między receptorem 5-HT1B i SERT w modulowaniu skurczu naczyń płucnych i ich proliferacji. W pracy omówiono dowody wpływu 5-HT na rozwój tętniczego nadciśnienia płucnego i możliwe cele terapeutyczne w obrębie układu serotoninergicznego.

Słowa kluczowe:

serotonina • tętnicze nadciśnienie płucne • hydroksylaza tryptofanu • transporter serotoniny • receptory serotoninowe

Summary

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a progressive, complex disease leading to the right ventricular failure and premature death. PAH is characterized by increased pulmonary arterial pressure, increased vascular resistance, pulmonary vascular remodeling and endothelial dysfunction. Pathomechanism of this disease is still unknown. It has been suggested, that endothelial dysfunction is caused by unbalance between vasodilators and vasoconstrictors e.g. serotonin (5-HT). Previously, serotonin hypothesis was linked to the anorexigens, derivatives of fenfluramine, which are serotonin transporter (SERT) substrates. Nowadays, it has been proved that all elements of serotonergic system within pulmonary circulation participate in the development of PAH. The tryptophan hydroxylase 1 (Tph-1) catalyses synthesis of 5-HT from tryptophan in the pulmonary arterial endothelial cells. 5-HT mediates contraction of pulmonary vessels via 5-HT1B and 5-HT2A receptors. 5-HT is also transported into pulmonary

*Praca została sfinansowana z programu statutowego nr 133-13559F Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Keywords:	arterial smooth muscle cells via SERT and through activation of reactive oxygen species and Rho-kinase may contribute to contraction or/and, via stimulation of transcription factors, lead to proliferation and remodelling. There is also increasing number of evidence about functional interaction between 5-HT _{1B} receptor and SERT in modulation of vasoconstriction and proliferation in pulmonary arteries. This review discusses the role of 5-HT in the development of PAH and highlights possible therapeutic targets within serotonergic system.
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1107860
Word count:	3387
Tables:	–
Figures:	3
References:	84

Adres autorki: mgr Monika Kloza, Zakład Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, 15-089 Białystok; ul. Mickiewicza 2A; e-mail: monika.kloza@umb.edu.pl

Wykaz skrótów: **5-HT** – serotonina, 5-hydroksytryptamina (serotonin, 5-hydroxytryptamine), **BMPR 2** – receptor białka morfogenetycznego kości typu 2 (bone morphogenetic protein receptor 2), **cAMP** – cykliczny adenylozomonofosforan (cyclic adenosine monophosphate), **Elk1**, **Egr1**, **GATA 4** – czynniki transkrypcyjne (transcription factors), **ERK1/2** – kinaza 1/2 regulowana sygnałami zewnątrzkomórkowymi ERK1/2 (phosphorylated extracellular signal-regulated kinase), **ET-1** – endotelina 1 (endothelin 1), **FN** – szczury szczepu Fawn-Hooded (Fawn-Hooded rats), **FPAH** – rodzinne tętnicze nadciśnienie płucne (familial pulmonary arterial hypertension), **HIF-1** – indukowany hipoksją czynnik 1 (hypoxia inducible factor-1), **IPAH** – idiopatyczne tętnicze nadciśnienie płucne (idiopathic pulmonary arterial hypertension), **MAO-A** – monoaminooksydaza A (monoamine oxidase A), **MLCP** – fosfataza lekkich łańcuchów miozyny (myosin light chain phosphatase), **MYPT-1** – składnik fosfatazy łańcuchów lekkich miozyny (myosin phosphatase target subunit 1), **NADPH** – oksydaza dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase), **NO** – tlenek azotu (nitric oxide), **PAH** – tętnicze nadciśnienie płucne (pulmonary arterial hypertension), **PASMCs** – komórki mięśni gładkich tętnicy płucnej (pulmonary arterial smooth muscle cells), **PGI₂** – prostacyklina I₂ (prostacyclin I₂), **PH** – nadciśnienie płucne (pulmonary hypertension), **ROCK** – kinaza-Rho (Rho-kinase), **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **SD** – szczury szczepu Sprague-Dawley (Sprague-Dawley rats), **SERT** – transporter serotoniny (serotonin transporter), **SERT+** – nadekspresja transportera serotoniny (over-expression serotonin transporter), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor β), **Tph-1** – hydroksylaza serotoniny (serotonin hydroxylase).

WSTĘP

Nadciśnienie płucne (PH - pulmonary hypertension) jest stanem patofizjologicznym i hemodynamicznym, który może występować w przebiegu wielu chorób. PH definiuje się jako podwyższone ciśnienie w tętnicy płucnej ≥ 25 mmHg w stanie spoczynku (prawidłowe średnie ciśnienie 14 ± 3 mmHg, przy górnej wartości 20 mmHg), oznaczone za pomocą cewnikowania serca [31].

Obecny podział kliniczny PH pochodzi z IV Światowego Sympozjum Nadciśnienia Płucnego, które odbyło się w 2008 r. w Dana Point w Kalifornii. PH sklasyfikowano na pięć głównych kategorii: I - tętnicze nadciśnienie płucne (PAH - pulmonary arterial hypertension), II - PH

w przebiegu chorób lewej części serca, III - PH związane z chorobami płuc, IV - przewlekłe zatorowo-zakrzepowe PH, V - PH o niewyjaśnionym i/lub wieloczynnikowym patomechanizmie [77].

Grupę I - PAH dzieli się na: 1) idiopatyczne (IPAH - idiopathic pulmonary arterial hypertension), 2) dziedziczne (dawna nazwa „rodzinne PAH” - FPAH - familial pulmonary arterial hypertension; stosowana w wielu pracach do dzisiaj), 3) wywołane przez leki lub toksyny (np. aminoreks, fenfluramina), 4) w przebiegu wybranych chorób - nabyte (APAH - acquired pulmonary arterial hypertension; np. skutek nadciśnienia wrotnego), 5) przetrwałe nadciśnienie płucne noworodków.

Tętnicze nadciśnienie płucne jest chorobą rzadką, co roku na świecie odnotowuje się 15 zachorowań na milion osób. Ponad 50% pacjentów ze zdiagnozowanym PAH to kobiety, średnia wieku wykrycia choroby to 50±15 lat [5,39]. Na ogół upływa około dwóch lat między pierwszymi objawami a diagnozą [5], początkowe symptomy są bardzo nieswoiste. Chorzy najczęściej skarżą się na zmęczenie, osłabienie i duszność przy wysiłku [37]. PAH jest chorobą śmiertelną i do tej pory nie udało się opracować skutecznego leczenia, a średni czas życia od diagnozy waha się 2-8 lat [68].

Nieznany jest dokładnie proces inicjujący zmiany patologiczne w PAH, chociaż wiadomo, iż ma on etiologię wieloczynnikową, obejmującą różne szlaki biochemiczne i typy komórek. Przyczyn nasilonego skurczu naczyniowego upatruje się w zaburzeniach dotyczących nieprawidłowej czynności lub ekspresji kanałów potasowych głównie Kv1.5 w obrębie komórek mięśni gładkich tętnic płucnych (PASMCs - pulmonary arterial smooth muscle cells) oraz dysfunkcji śródbłonna naczyń płucnych. Zaburzenie równowagi przemian biochemicznych w komórkach endotelium zmniejsza wytwarzanie substancji antyproliferacyjnych, rozkurczowych np. tlenku azotu (NO) i prostacykliny I₂ (PGI₂) z występującą nadmierną syntezą związków naczynioskurczowych i proliferacyjnych, np. tromboksan A2 i endotelina 1 (ET-1) [78]. Skurcz naczyń płucnych występuje także w następstwie hipoksji towarzyszącej m.in. chorobom płuc. W procesie tym biorą udział takie czynniki jak: serotonina (5-HT, 5-hydrokсыtryptamina) oraz indukowany hipoksją czynnik 1 (HIF-1- hipoxia inducible factor - 1), który pośredniczy w kaskadzie przekazywania sygnału o stanie niewielkiego stężenia tlenu w komórce [63,67].

Charakterystycznymi cechami PAH jest wazokonstrykcja powodująca zwiększenie oporu naczyniowego, przebudowę naczyń polegającą na proliferacji PASMC, a tym samym do zwężenia światła naczynia [81]. Nadmiernie rozrastają się również komórki fibroblastów i śródbłonna. W zaawansowanej chorobie dochodzi do zwłóknienia błony wewnętrznej, przerostu mięśniówki i przydanki naczyń oraz obliteracji tętniczek o małym przekroju (<500 μM). Obserwuje się charakterystyczne, nieodwracalne zmiany spłotowate - plexiform lesion - czyli wytwarzanie drobnych kanałów kapilarnych wewnątrz ściany pogrubiałych tętniczek, tworząc wrażenie spłotu naczyniowego blisko oskrzelika lub oskrzela [9,28,70]. U podstaw zmian hemodynamicznych PAH leżą również procesy wykrzepiania i zapalenia [38]. Komórki zapalne, a zwłaszcza monocyty, limfocyty i makrofagi są znajdowane w zmienionych chorobowo naczyniach [10]. Rozwijający się stan zapalny powoduje ograniczenie przepływu krwi przez tętniczki płucne i sprzyja powstawaniu przyściennych skrzepin [3]. Zwężenie światła naczyń płucnych i ich zgrubienie powoduje, że stawiają one większy opór krwi tłoczonej przez prawą komorę serca. Zwiększające się zatem jej obciążenie następne doprowadza najpierw do jej hipertrofii, powiększenia, a następnie do przeciążenia i niewydolności. Taki stan

bezpośrednio zagraża życiu pacjenta [81]

Tętnicze nadciśnienie płucne może się rozwinąć w różnych sytuacjach, zależnie od współistniejących chorób. Prawie u 70% pacjentów z FPAH i u 10-40% z IPAH wykryto mutacje linii zarodkowych genu receptora morfogenetycznego kości typu 2 (BMPR 2 - bone morphogenetic protein receptor 2). Proteina ta należy do rodziny transformującego czynnika wzrostu β (TGF-β - transforming growth factor β) i bierze udział w kontroli proliferacji komórkowej, różnicowania oraz apoptozy. Wszystkie znane mutacje BMPR 2 obniżają poziom ekspresji tego receptora. U osób zdrowych BMPR 2, zmniejsza pobudzanie TGF-β, natomiast utrata aktywacji BMPR 2, powoduje proliferację PASMCs [13].

Rodzinne PAH jest cechą dziedziczną autosomalnie dominującą, chociaż gen przenika w 20%. Badania sugerują, że wpływ na wystąpienie objawów u takich osób mają czynniki środowiskowe np. podniesione stężenie 5-HT w osoczu [14].

Patogeneza PAH nie została do końca poznana. Mimo wprowadzonego już schematu postępowania terapeutycznego, w tym stosowania analogów PGI₂ (np. epoprostenol), antagonistów receptorów ET-1 (np. bosentan), inhibitora fosfodiesterazy 5 (np. sylденаfil), czy w skrajnych przypadkach wziewne podawanie NO, wciąż poszukuje się nowych szlaków wyjaśniających powstawanie PAH, a tym samym nowych potencjalnych leków [73]. Duże nadzieje wiąże się z „teorią serotoninową”, która może wyjaśnić patogenezę powstawania PAH przez wazokonstrykcyjne i proliferacyjne działanie 5-HT. Odgrywają tu znaczącą rolę: 5-HT oraz uczestnicząca w jej powstawaniu hydroksylaza tryptofanu 1 (Tph-1), receptory serotoninowe 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} oraz transporter serotoniny (SERT).

TEORIA SEROTONINOWA W ETIOLOGII TĘTNICZEGO NADCIŚNIENIA PŁUCNEGO

W latach 60 ub.w. zaobserwowano zwiększoną liczbę przypadków PAH. Chorobę zdiagnozowano u otyłych kobiet przyjmujących Aminorex® - lek obniżający łaknienie, który jest pośrednio agonistą receptorów serotoninowych [42]. Podobna sytuacja powtórzyła się w latach 80, wtedy również odnotowano wzrost częstości występowania przypadków PAH, gdy na rynek farmaceutyczny wprowadzono nowy anoreksygeny lek - fenfluraminę [1,22]. Oba związki działały na SERT i odwracały kierunek przepływu 5-HT i do wypływu 5-HT na zewnątrz komórki. Powodowało to zwiększenie zewnątrzkomórkowego stężenia 5-HT w łożysku płucnym, pobudzenie swoistych receptorów serotoninowych, szczególnie 5-HT_{1B} i nadmierne skurcze naczyń płucnych oraz rozwój PAH [74]. W następnych latach odkryto również nieserotonergiczne działanie leków anoreksygennych, takie jak inhibicja kanałów potasowych, wzrost zewnątrzkomórkowego stężenia Ca²⁺, wazokonstrykcja i działanie mitogenne. W latach 90

wykazano korelację między podwyższonym poziomem 5-HT a występowaniem PAH i te obserwacje doprowadziły do ukształtowania się „serotoninowej teorii PAH”. Pierwotnie teoria serotoninowa zakładała tylko wpływ leków anoreksyjnych, jednak badania ostatnich lat wykazały, że dotyczy ona także nadmiernej syntezy 5-HT przez Tph-1, pobudzenie SERT oraz aktywacji receptorów serotoninowych 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} [54].

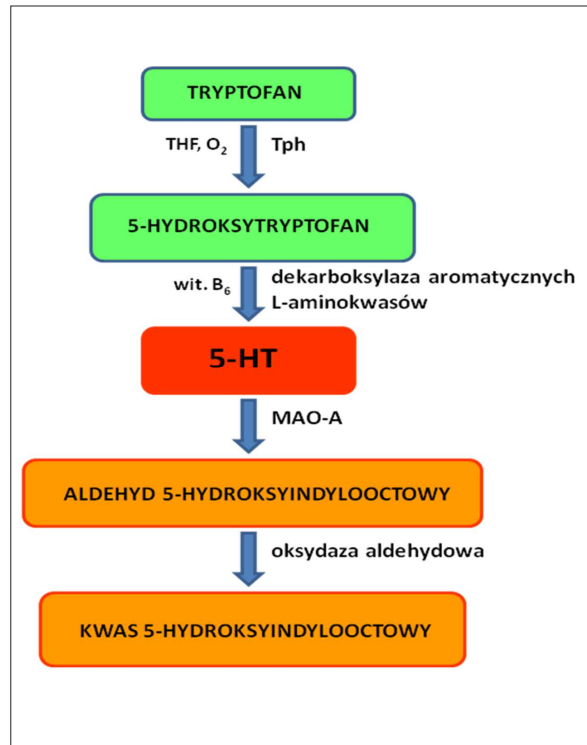
Podwyższone stężenia 5-HT w surowicy krwi stwierdzono nie tylko u pacjentów z pierwotnym, ale także w niektórych postaciach wtórnego PH [21]. Herve i wsp. zauważyli, że w przypadku zwiększonego stężenia 5-HT w surowicy, towarzyszy spadek jej zawartości w trombocytach i taka hiperserotoninemia jest patognomonicznym objawem PAH [34]. U osób z rakowiakiem, u których typowym objawem są duże stężenia 5-HT, nie zaobserwowano związku z PAH. Nie można jednoznacznie stwierdzić, że podwyższone stężenia 5-HT są charakterystyczne tylko dla PAH, jednak są typowym objawem omawianej patologii [12].

SEROTONINA I HYDROKSYLAZA TRYPTOFANU 1

Serotonina została odkryta w latach 40 XX wieku i w ciągu następnej dekady, stwierdzono jej obecność w centralnym układzie nerwowym zwierząt oraz jej znaczenie jako neuroprzekaźnika [69]. Swoją nazwę zawdzięcza wyizolowaniu z surowicy krwi (blood serum, sero-) i zdolności kurczenia mięśni gładkich (-tonin) [83]. Serotonina występuje także w komórkach enterochromochłonnych, żołądka i płytkach krwi (99% 5-HT z surowicy krwi jest gromadzone w trombocytach) [51]. Źródłem obwodowej 5-HT są ponadto komórki neuroendokrynne i neuroepitelialne dróg oddechowych [59], z których jest wydzielana pod wpływem hipoksji [55]. Fizjologiczne stężenie 5-HT w osoczu wynosi 1-2 nM, lecz w przebiegu PAH może przekraczać 30 nM [59].

Synteza 5-HT (ryc. 1) zachodzi w wyniku hydroksylacji niezbędnego aminokwasu – L-tryptofanu do 5-hydroksytryptofanu z udziałem Tph w obecności O₂ oraz tetrahydrofolianu (THF - tetrahydrofolian). Następnie nieswoista dekarboksylaza aromatycznych L-aminokwasów z przyłączoną witaminą B₆ katalizuje reakcję powstawania 5-HT. Metabolizm komórkowy 5-HT zachodzi pod wpływem monoaminooksydazy A (MAO A) do aldehydu 5-hydroksyindolooctowego, który jest utleniany za pomocą oksydazy aldehydowej do kwasu 5-hydroksyindolooctowego istotny parametr ilościowego oznaczania 5-HT [6].

Hydroksylaza tryptofanu występuje w organizmie w dwóch izoformach: Tph-1 i Tph-2. Tph-1 jest obecna głównie w jelitach oraz pośredniczy w generowaniu 5-HT do krążenia obwodowego, natomiast Tph-2 występuje wyłącznie w mózgu [82]. Zwiększoną ekspresję oraz aktywność obwodowej izoformy Tph- wykryto zarówno w mięśniach gładkich, jak i śródbłonku naczyń płucnych pacjentów z IPA. Zablockowanie jej za pomocą inhibitora p - chlorofenylalaniny redukowało proliferację



Ryc. 1. Synteza i metabolizm serotoniny; 5-HT – serotonina; THF – tetrahydrofolina; Tph – hydroksylaza tryptofanu; MAO-A – monoaminooksydaza A

izolowanych PSMCs od tych chorych [18]. W badaniach przeprowadzonych na myszach genetycznie pozbawionych Tph-1 (Tph-1^{-/-}) i poddanych hipoksji zauważono wyraźnie obniżoną przebudowę naczyń płucnych w porównaniu z grupą kontrolną. Badania te potwierdzają udział syntetyzowanej *de novo* 5-HT, jako niezbędnego czynnika w rozwoju PAH [40,58]. Stosując ten sam model doświadczalny, u myszy Tph-1^{-/-} nie zauważono zmian w ciśnieniu skurczowym prawej komory serca oraz w przebudowie naczyń płucnych po podaniu deksfenfluraminy, związku, który może indukować PAH [15]. Zarówno niedotlenienie, jak i mechaniczne rozciąganie naczyń płucnych spowodowało wzrost ekspresji Tph-1 i uwolnienie 5-HT w płucach królika [66]. Wyniki tych badań oraz doświadczeń przeprowadzonych przez zespół prof. MacLean sugerują, że przewlekła hipoksja może indukować syntezę Tph-1 w komórkach śródbłonka naczyń płucnych, następnie zwiększać wytwarzanie 5-HT, która działając parakrynnie na PSMCs i fibroblasty odgrywa znaczącą rolę w powstawaniu PAH [14]. Zwiększone ilości 5-HT powstające w PAH powodują proliferację PSMCs, skurcz tętnic płucnych, a także miejscowe wykrzepianie [33,61].

RECEPTORY SEROTONINOWE WYSTĘPUJĄCE W NACZYNIACH PŁUCNYCH A TĘTNICZE NADCIŚNIENIE PŁUCNE

Międzynarodowa Unia Farmakologiczna (IUPHAR – International Union of Pharmacology) w 2011 roku sklasyfikowała 14 receptorów serotoninergicznych

różniących się pod względem budowy strukturalnej, które podzielono na siedem rodzin (5-HT₁₋₇), a niektóre rodziny zostały podzielone na podtypy [2]. W patogenezie PAH szczególne znaczenie odgrywa receptor 5-HT_{1B}, natomiast mniejszą rolę przypisuje się receptorom 5-HT_{2A} oraz 5-HT_{2B}.

Receptor 5-HT_{1B} jest swoisty dla krążenia płucnego (zarówno u zwierząt jak i ludzi), jest umiejscowiony w PSMCs o małej (250-300 µm) i dużej średnicy. Udział tych receptorów w skurczu ludzkich tętnic płucnych potwierdzono z użyciem sumatriptanu – agonisty receptora 5-HT_{1B} [50,59]. W modelu doświadczalnym PAH u świń, myszy, szczurów, a także u pacjentów z PAH w naczyniach płucnych stwierdzono wzrost ekspresji receptora 5-HT_{1B} [18,43,44]. Wykazano, że receptor 5-HT_{1B} bierze udział w rozwoju PAH u myszy i szczurów narażonych na przewlekłą hipoksję, co wyraża się silniejszą odpowiedzią skurczową naczyń płucnych pobranych od tych zwierząt po podaniu 5-HT. U myszy i szczurów natomiast, które były pozbawione receptorów 5-HT_{1B} lub po podaniu im selektywnego antagonisty - GR127935 zaobserwowano zmniejszone ciśnienie krwi w prawej komorze serca oraz zmniejszoną odpowiedź skurczową pod wpływem działania 5-HT [43]. Inny antagonist receptoru 5-HT_{1B} - SB224289, spowodował zahamowanie odpowiedzi skurczowej 5-HT w izolowanych naczyniach płucnych szczurów ze szczepów Fawn-Hooded (FH) oraz w grupie kontrolnej, czyli szczurów Sprague-Dawley (SD) [60]. Szczury FH potraktowano jako model ludzkiego PAH, ponieważ mają zmienione funkcje serotoninergiczne, dziedziczny defekt gromadzenia 5-HT, co prowadzi do jej wzrostu na obwodzie [24,75] i wzrostu wrażliwości naczyń płucnych na działanie 5-HT [4]. Szczury FH są bardziej wrażliwe na działanie hipoksji, w celu wywołania PAH, w porównaniu do szczurów SD [55].

Receptory 5-HT_{2A} są umiejscowione w komórkach mięśni gładkich naczyń krążenia systemowego i płucnego, a jego pobudzenie odpowiada za skurcz naczyń. Blokada tego receptora zmniejsza kurczliwość izolowanych naczyń płucnych szczurów z PAH pod wpływem 5-HT (PAH było indukowane monokrotaliną oraz niedotlenieniem) [35,60]. Wskutek aktywacji receptorów 5-HT_{2A} dochodziło do proliferacji płucnych tętniczych fibroblastów u szczura [84]. Pobudzenie receptorów 5-HT_{2A} w naczyniach płucnych może nastąpić jedynie w przypadku patologicznie wysokich (> 0,1 µM) stężeń 5-HT [52,59]. Ponieważ receptory 5-HT_{2A} główną rolę odgrywają w skurczu naczyń obwodowych [14], dlatego też wpływ ich selektywnego antagonisty ketanseryny klinicznie potwierdzono w leczeniu nadciśnienia systemowego, ale nie znalazł zastosowania w terapii PAH [23,80].

Niewiele jest doniesień o roli receptora 5-HT_{2B} w rozwoju PAH. Receptory te są umiejscowione w śródbłonku naczyń i odpowiadają za rozkurcz naczyń płucnych, pełniąc tym samym rolę ochronną. Stwierdzono, że niedobór receptorów 5-HT_{2B} u myszy powodował rozwój PAH [44]. Brak tych receptorów może predyspo-

nować do wystąpienia PAH związanego ze stosowaniem fenfluraminy u ludzi [7]. Może także odpowiadać za wzrost stężenia 5-HT w surowicy krwi myszy [8]. Do tej pory nie wykazano jednak wpływu receptorów 5-HT_{2B} - obecnych w naczyniach płucnych ludzi na czynność skurczową tętnic płucnych oraz proliferację PSMCs.

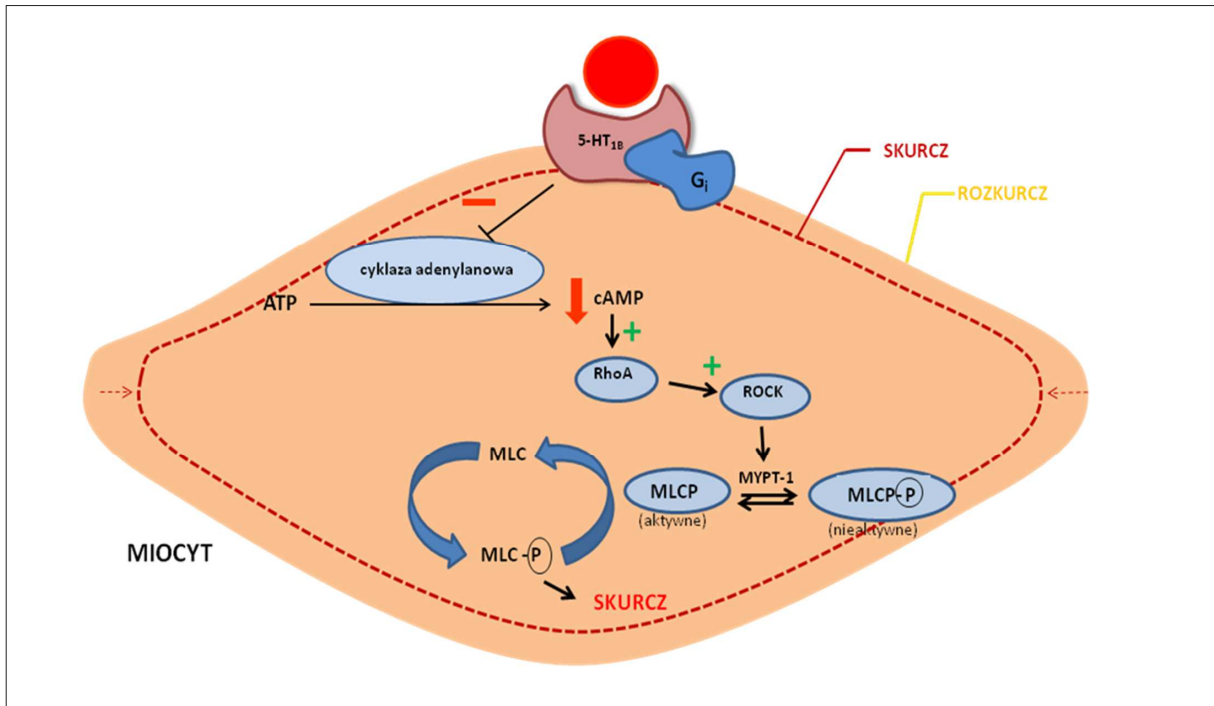
Ze względu na potwierdzony udział receptorów 5-HT_{1B} w rozwoju PAH u ludzi i zwierząt doświadczalnych, dokładnie zbadano drogę wewnątrzkomórkową wywołującą zmiany charakterystyczne dla PAH, czyli wazokonstrykcji i proliferacji PSMCs [26,53].

Pobudzenie receptora 5-HT_{1B} jest związane z białkiem G_i i wywołuje spadek wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP na skutek zmniejszenia aktywności cykazy adenylanowej. Podczas pobudzenia tych receptorów następuje aktywacja białka RhoA, należącego do rodziny białek G będących małymi monomerycznymi GTP-azami. Następnym ogniwem szlaku, pobudzonym przez RhoA jest kinaza Rho (ROCK). ROCK w wyniku fosforylacji, nieczynnik składnik fosfatazy łańcuchów lekkich miozyny (MYPT-1 – myosin phosphatase target subunit 1). Nieczynnik MYPT-1 traci swoją fizjologiczną zdolność do hamowania fosforylacji lekkich łańcuchów miozyny (MLCP – myosin light chain phosphatase) i w konsekwencji skurczu mięśnia (ryc. 2) [33,55].

Kinaza Rho wywołuje dodatkowo translokację ufosforylowanego ERK1/2 (phosphorylated extracellular signal-regulated kinase) do jądra i wzrost ekspresji genów odpowiedzialnych za proliferację PSMCs w kapilarach płucnych [46,48].

TRANSPORTER SEROTONINY A PAH

Transporter serotoniny wraz z przenośnikiem dopaminy, noradrenaliny należy do dużej rodziny transporterów zależnych od Na⁺/Cl⁻. Obecność SERT stwierdzono w strukturach mózgu, sercu, nerkach, w błonie presynaptycznej neuronów serotoninergicznych, komórkach śródbłonka oraz błonie PSMCs, łożysku i trombocytach [33,64]. SERT kodowany jest przez pojedynczy gen, znajdujący się na chromosomie 17q11.2 i ma różne warianty w regionie promotora. Ten polimorfizm wpływa na ekspresję i funkcję SERT. Allel L (long) 2-3 razy częściej ulega ekspresji i wykazuje odpowiednio większą aktywność transportera w porównaniu do allelu S (short) [20]. Genotyp „LL” jest częściej spotykany u pacjentów z IPAH w porównaniu do grupy kontrolnej, a także u pacjentów z PAH z towarzyszącą przewlekłą obturacyjną chorobą płuc. Badania przeprowadzone przez Machado i wsp. wykazały brak istotnych dowodów na związek między allelami genu SERT i nadciśnieniem płucnym. Nie zaobserwowano także korelacji między wiekiem zachorowań w FPAH i IPAH [49]. Wydaje się, że posiadany genotyp nie determinuje wystąpienia PAH, lecz może wpłynąć na wcześniejsze jego rozwinięcie np. podczas przebywania na większych wysokościach n.p.m. [17].



Ryc. 2. Szlak sygnałowy związany z pobudzeniem receptora 5-HT_{1B} w komórce mięśnia gładkiego tętnicy płucnej; Gi – białko Gi sprzężone z receptorem; ATP – adenosynotryfosforan; cAMP – cykliczny adenosynomonofosforan; MYPT-1 – składnik fosfatazy łańcuchów lekkich miozyny; MLCP – fosfataza lekkich łańcuchów miozyny; MLC – lekkie łańcuchy miozyny; RhoA – białko G będące małą monomeryczną GTP-azą; ROCK – kinaza Rho

Zadaniem SERT jest wychwyt zwrotny 5-HT ze szczeliny synaptycznej do neuronów presynaptycznych, w przypadku umiejscowienia w układzie nerwowym lub przetransportowanie 5-HT ze środowiska zewnętrznego do komórki lub w przeciwnym kierunku, gdy umiejscowiony jest na błonie trombocytów lub komórek mięśni gładkich. Mechanizm transportu zachodzi na zasadzie symportu (transport bierny wspomagany), tzn. do transportera przyłącza się cząsteczka 5-HT, kation sodowy oraz anion chlorkowy, następuje zmiana konformacji białka (przenośnika), co powoduje przeniesienie związanej 5-HT oraz jonów do wnętrza komórki, gdzie dysocjują, a transporter, przyłączając K⁺ powraca do swojej pierwotnej konformacji i jest gotowy do przeniesienia kolejnej cząsteczki [29].

W wielu przeprowadzonych doświadczeniach ustalono, że 5-HT po dostaniu się do PSMCs oraz fibroblastów przez SERT (internalizacja) działa mitogennie [14]. Istotne jest to, że komórki mięśni gładkich proliferują z udziałem SERT tylko w płucach. W dużym krwiobiegu namnażają się zależnie od pobudzenia receptorów 5HT_{2A} [54].

Mechanizm działania SERT w pobudzeniu rozrostu mięśniówki gładkiej naczyń nie jest dokładnie poznany. Na rycinie 3 przedstawiono prawdopodobną kaskadę reakcji wywołaną aktywnością SERT. Przypuszcza się, że 5-HT po przedostaniu się do cytoplazmy PSMCs jest rozkładana przez MAO-A lub oksydazę NADPH z wytworzeniem reaktywnych form tlenu (ROS - reactive oxygen

species). Te powodują fosforylację i translokację ERK 1/2 do jądra komórkowego. To aktywuje czynniki transkrypcyjne, takie jak: Elk1, Egr1, GATA 4, a w konsekwencji ekspresję białka S100A4/Mts1, które promuje zależną od wapnia proliferację PSMCs [45,48,79].

Zaobserwowano, że PAH rozwija się u myszy z nadekspresją ludzkiego SERT (SERT+) w warunkach hipoksji lub po iniekcji monokrotaliny, natomiast zmian w ciśnieniu płucnym oraz budowie naczyń nie wywołano u myszy bez tego transportera [19,32]. Badania przeprowadzone przez MacLean i wsp. [54] potwierdzają, że niedotlenienie u myszy SERT+ powoduje - w porównaniu do zwierząt normoksyjnych - dwukrotny wzrost hipertrofii prawej komory serca oraz remodeling naczyń płucnych. Ponadto blokada SERT za pomocą citalopramu lub fluoksetyny (inhibitory SERT), redukowała wzrost mięśniówki gładkiej izolowanych tętnic płucnych człowieka i bydła [47,57], co jest dowodem wskazującym na rolę jaką pełni SERT w działaniach proliferacyjnych wywołanych 5-HT.

W badaniach przeprowadzonych na PSMCs pochodzących od pacjentów z IPAH po podaniu 5-HT zaobserwowano wzrost proliferacji tych komórek. Komórki miały zwiększoną ekspresję SERT w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast skutki proliferacji były hamowane przez citalopram i fluoksetynę [57,61].

Serotonina transportowana poprzez SERT do wnętrza komórki działa przez RhoA i jego efektor ROCK. Kinaza

Rho odgrywa wiele znaczących funkcji w komórce, m.in. bierze udział w proliferacji, migracji, skurczu mięśni gładkich i przebudowie komórek (ryc. 1). Stwierdzono, że u myszy SERT⁺ wzrasta poziom ROCK i jest to zależne od remodelingu naczyń płucnych. Hamowanie ROCK, inhibitorem - Y-27632 u myszy SERT⁺ powoduje spadek zwiększonej przebudowy naczyń płucnych oraz spadek ciśnienia w prawej komorze serca [56]. W modelach zwierzęcych po ekspozycji na przewlekłe niedotlenienie lub po podaniu monokrotaliny, inhibitory ROCK, fasudil i Y-27632 redukowały PAH [62,65]. U ludzi cierpiących na PAH fasudil redukował hipertrofię i ciśnienie w prawej komorze serca [25] oraz remodeling naczyń płucnych [62].

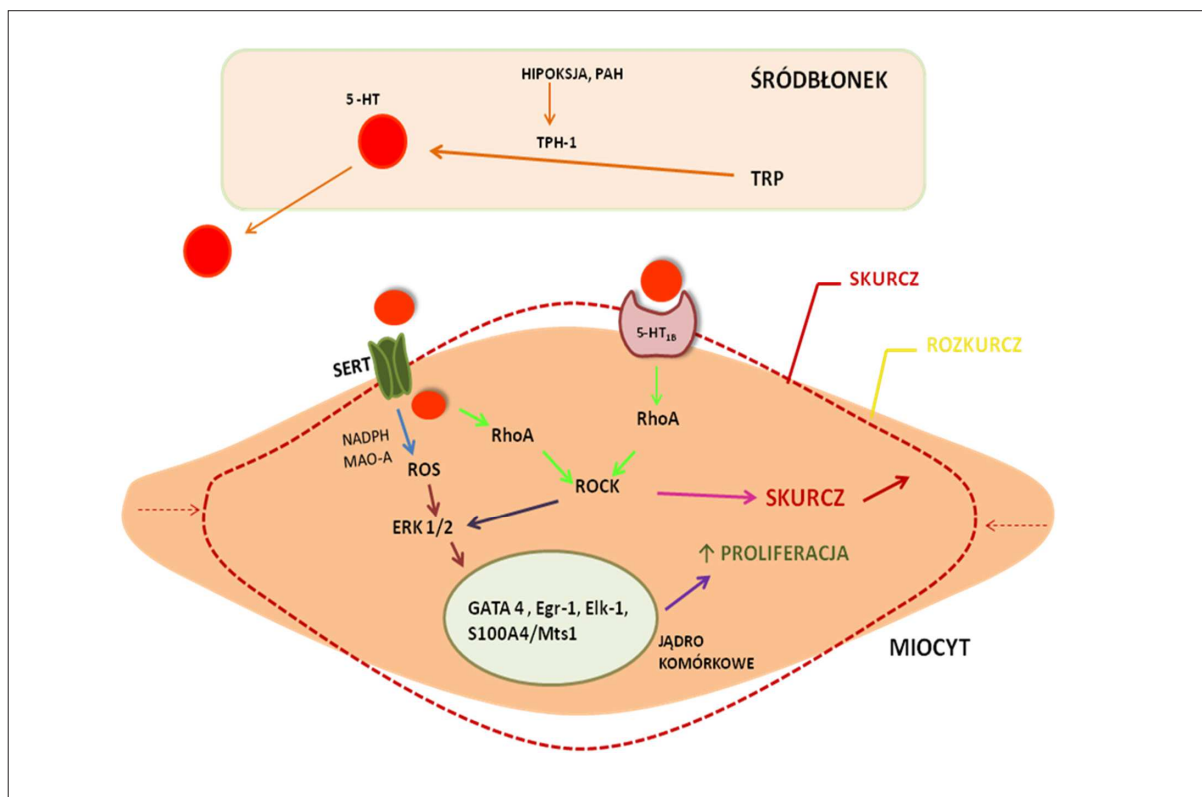
Ze względu na funkcje jakie pełni SERT w biologii komórki i jego uczestnictwo w regulowaniu ilości zewnątrzkomórkowej 5-HT sugerowano, iż inhibitory SERT mogą mieć zastosowanie w terapii PAH [27,80]. Niestety zablokowanie SERT może nasilić odpowiedź skurczową na 5-HT, gdyż zwiększa pulę 5-HT dostępnej dla receptorów 5-HT_{1B}. Dodatkowo wykazano, iż monoterapia inhibitorami SERT nie zwiększyła przeżywalności pacjentów z PAH [41].

INTERAKCJA MIĘDZY SERT A RECEPTORAMI 5-HT_{1B}

Wyniki licznych prac dowodzą, że za skurcz PSMCs odpowiada nie tylko 5-HT pobudzająca receptory 5-HT_{1B},

lecz także internalizowana z udziałem SERT. Podobnie na proliferację naczyń wpływa 5-HT transportowana przez SERT oraz łącząca się z receptorem 5-HT_{1B} [14,71]. Wynika to z udowodnionego krzyżowania się szlaków wewnątrzkomórkowych pobudzenia SERT i 5-HT_{1B}, gdzie wspólnym ogniwem jest ROCK pośrednicząca w proliferacji PSMCs oraz w ich skurczu (ryc. 3).

Morecroft i wsp. potwierdzili interakcję 5-HT_{1B} i SERT zaangażowaną w odpowiedź skurczową naczyń pod wpływem 5-HT [60]. Podanie szczurom antagonisty 5-HT_{1B} - SB 224289 - oraz inhibitora SERT - citalopramu czy fluoksetyny - zmniejszyło odpowiedź skurczową naczyń płucnych na 5-HT. Aplikacja citalopramu zwierzętom SERT⁺ wywołała wzrost odpowiedzi skurczowej na 5-HT. Wynika to ze zwiększenia ilości wolnej 5-HT pozostającej w obrębie receptora 5-HT_{1B} po zablokowaniu SERT. Ponadto wykazano synergizm działania między SB224289 i fluoksetyną. Największy wpływ hamujący skurcz szczurzej tętnicy płucnej wywołany 5-HT miał LY 393558 - łączący w sobie cechy antagonisty 5-HT_{1B} i inhibitora SERT [60]. Wyniki te zostały potwierdzone w badaniach odpowiedzi skurczowej na 5-HT izolowanej tętnicy płucnej myszy szczepu dzikiego i genetycznie modyfikowanych z SERT⁺ [61]. Ponadto, związek ten nie wpływał na ciśnienie systemowe i częstość akcji serca zwierząt z doświadczalnie wyindukowanym PAH, wyka-



Ryc. 3. Teoria serotoninowa tętniczego nadciśnienia płucnego; 5-HT – serotonina; TRP- tryptofan; PAH – tętnicze nadciśnienie płucne; SERT – transporter serotoniny; RhoA – białko G będące małą monomeryczną GTP-azą; ROCK – kinaza Rho; ROS - reaktywne formy tlenu; MAO-A – monoaminoooksydaza A; NADPH – oksydaza dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego; ERK1/2 – kinaza 1/2 regulowana sygnałami zewnątrzkomórkowymi ERK1/2; Elk1, Egr1, GATA 4 – czynniki transkrypcyjne

zując jedynie miejscowe, w obrębie łożyska płucnego, działanie terapeutyczne – obniżał skurczowe ciśnienie oraz przerost prawej komory serca i przebudowę naczyń płucnych. U pacjentów z IPAH LY 393558 dwa razy silniej niż citalopram, cofał indukowaną 5-HT proliferację PSMCs [61]. Biorąc powyższe pod uwagę, jednoczesna blokada receptora 5-HT_{1B} i SERT jest szansą na poprawę jakości życia pacjentów z PAH.

TERAPIA PAH A TEORIA SEROTONINOWA

Mimo postępów w leczeniu PAH ograniczenia czynnościowe i przeżywalność pacjentów z tą chorobą nadal są niezadowalające. W związku z tym bada się inne terapie ukierunkowane na rozmaite zmiany patofizjologiczne, mające poprawić rokowanie, w tym inhibitor kinazy Rho – fasudil [72].

W kontekście „teorii serotoninowej” PAH obiecującym preparatem jest imatinib, inhibitor kinazy tyrozynowej [78]. Związek ten hamuje ekspresję Tph odwracając tym samym remodeling naczyń płucnych w modelu PAH u szczurów [76]. W badaniach na myszach poddanych hipoksji zauważono redukcję wskaźników hemodynamicznych i remodelingu naczyniowego, a także zmniejszenie stężenia 5-HT w surowicy krwi i ekspresji Tph-1 w tkance płucnej [11]. Badania te potwierdzono na ludzkich koloniach komórek śródbłonna, w których imatinib zmniejszał ekspresję Tph-1. Ponadto, w surowicy krwi u pacjentów przyjmujących imatinib stwierdzono obniżone stężenia 5-HT w populacji z wysokim płucnym oporem naczyniowym [11] oraz poprawę parametrów hemodynamicznych u pacjentów z PAH [30,36].

W II fazie randomizowanych badań klinicznych jest selektywny antagonist receptorów 5-HT_{2B} (PRX-8066), który u pacjentów z PAH powodował nieznaczną (>4

mmHg) redukcję skurczowego ciśnienia płucnego. Związek ten jest dobrze tolerowany i pozbawiony poważnych działań niepożądanych [80].

Z dużą ostrożnością podejmowane są próby wprowadzenia nowych leków do terapii PAH, w związku z występowaniem licznych działań niepożądanych badanych związków. Zaniechano m.in. prób klinicznych z Telotristatem – nieselektywnym inhibitorem Tph – który zaburzał pracę jelit i wytwarzanie serotonininy w ośrodkowym układzie nerwowym [80]. Terguride – antagonist 5-HT_{2A/B} i jednocześnie częściowy agonista dopaminy, zastosowany z dobrym skutkiem u zwierząt w modelu PAH wywołanym monokrotaliną [16] u ludzi z IPAH wywoływał nudności, duszność, zaparcia, bezsenność i ból brzucha.

PODSUMOWANIE

Wzrost wytwarzania 5-HT i złożone jej działanie na różne receptory i szlaki wewnątrzkomórkowe w komórkach krążenia płucnego są związane z patogenezą PAH. Funkcjonalne połączenia między składowymi układami serotoninergicznego w krążeniu płucnym powodują wzrost napięcia naczyń płucnych, proliferację komórek śródbłonna, mięśni gładkich i fibroblastów, wzrost krzepliwości i metabolizmu. Badania farmakologiczne prowadzone są w kierunku blokowania wielu patologicznych dróg 5-HT, jednak badania przedkliniczne na modelach są wciąż w pewnym stopniu ograniczone.

Lepsze zrozumienie, w jakim stopniu sygnalizacja 5-HT wpływa na rozwój PAH, połączenie możliwości badawczych proteomiki, metabolomiki i epigenetyki oraz tworzenie bardziej złożonych modeli zwierzęcych, może stworzyć nowe metody hamowania działania 5-HT, oferując lepsze możliwości terapeutyczne pacjentom z tą chorobą.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abenham L., Moride Y., Brenot F., Rich S., Benichou J., Kurz X., Higenbottam T., Oakley C., Wouters E., Aubier M., Simonneau G., Begaud B.: Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 609-616
- [2] Alexander S.P., Mathie A., Peters J.A.: Guide to Receptors and Channels (GRAC), 5th edition. *Br. J. Pharmacol.*, 2011; 164 (Suppl. 1): S1-S324
- [3] Archer S., Rich S.: Primary pulmonary hypertension: a vascular biology and translational research “Work in progress”. *Circulation*, 2000; 102: 2781-2791
- [4] Ashmore R.C., Rodman D.M., Sato K., Webb S.A., O'Brien R.F., McMurtry I.F., Stelzner T.J.: Paradoxical constriction to platelets by arteries from rats with pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol.*, 1991; 260: H1929-H1934
- [5] Badesch D.B., Raskob G.E., Elliott C.G., Krichman A.M., Farber H.W., Frost A.E., Barst R.J., Benza R.L., Liou T.G., Turner M., Giles S., Feldkircher K., Miller D.P., McGoon M.D.: Pulmonary arterial hypertension: baseline characteristics from the REVEAL Registry. *Chest*, 2010; 137: 376-387
- [6] Berger M., Gray J.A., Roth B.L.: The expanded biology of serotonin. *Annu. Rev. Med.*, 2009; 60: 355-366
- [7] Blanpain C., Le Poul E., Parma J., Knoop C., Detheux M., Parmentier M., Vassart G., Abramowicz M.J.: Serotonin 5-HT_{2B} receptor loss of function mutation in a patient with fenfluramine-associated primary pulmonary hypertension. *Cardiovasc. Res.*, 2003; 60: 518-528
- [8] Callebort J., Esteve J.M., Hervé P., Peoc'h K., Tournais C., Drouet L., Launay J.M., Maroteaux L.: Evidence for a control of plasma serotonin levels by 5-hydroxytryptamine_{2B} receptors in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2006; 317: 724-731
- [9] Chemla D., Castelain V., Hervé P., Lecarpentier Y., Brimiouille S.: Haemodynamic evaluation of pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.*, 2002; 20: 1314-1331
- [10] Cisowska M., Lewczuk J.: Aktualne spojrzenie na patofizjologię tętniczego nadciśnienia płucnego. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2007; 22: 286-290
- [11] Ciucan L., Hussey M.J., Burton V., Good R., Duggan N., Beach S., Jones P., Fox R., Clay I., Bonneau O., Konstantinova I., Pearce A.,

- Rowlands D.J., Jarai G., Westwick J., MacLean M.R., Thomas M.: Imatinib attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension pathology via reduction in 5-hydroxytryptamine through inhibition of tryptophan hydroxylase 1 expression. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2013; 187: 78-89
- [12] Czajkowski M., Gniet J., Dąbrowski W., Biernacka J., Stążka J.: Pierwotne nadciśnienie płucne w praktyce klinicznej. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15: 527-534
- [13] Davies R.J., Holmes A.M., Deighton J., Long L., Yang X., Barker L., Walker C., Budd D.C., Upton P.D., Morrell N.W.: BMP type II receptor deficiency confers resistance to growth inhibition by TGF- β in pulmonary artery smooth muscle cells: role of proinflammatory cytokines. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2012; 302: L604-L615
- [14] Dempsey Y., MacLean M.R.: Pulmonary hypertension: therapeutic targets within the serotonin system. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 155: 455-462
- [15] Dempsey Y., Morecroft I., Welsh D.J., MacRitchie N.A., Herold N., Loughlin L., Nilsen M., Peacock A.J., Harmar A., Bader M., MacLean M.R.: Converging evidence in support of the serotonin hypothesis of dexfenfluramine-induced pulmonary hypertension with novel transgenic mice. *Circulation*, 2008; 117: 2928-2937
- [16] Dumitrascu R., Kulcke C., Königshoff M., Kouri F., Yang X., Morrell N., Ghofrani H.A., Weissmann N., Reiter R., Seeger W., Grimminger F., Eickelberg O., Schermuly R.T., Pullamsetti S.S.: Terguride ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Eur. Respir. J.*, 2011; 37: 1104-1118
- [17] Eddahibi S., Chaouat A., Morrell N., Fadel E., Fuhrman C., Bugnet A.S., Darteville P., Housset B., Hamon M., Weitzenblum E., Adnot S.: Polymorphism of the serotonin transporter gene and pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Circulation*, 2003; 108: 1839-1844
- [18] Eddahibi S., Guignabert C., Barlier-Mur A.M., Dewachter L., Fadel E., Darteville P., Humbert M., Simonneau G., Hanoun N., Saurini F., Hamon M., Adnot S.: Cross talk between endothelial and smooth muscle cells in pulmonary hypertension: critical role for serotonin-induced smooth muscle hyperplasia. *Circulation*, 2006; 113: 1857-1864
- [19] Eddahibi S., Hanoun N., Lanfumey L., Lesch K.P., Raffestin B., Hamon M., Adnot S.: Attenuated hypoxic pulmonary hypertension in mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1555-1562
- [20] Eddahibi S., Humbert M., Fadel E., Raffestin B., Darmon M., Capron F., Simonneau G., Darteville P., Hamon M., Adnot S.: Serotonin transporter overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 1141-1150
- [21] Egermayer P., Town G.I., Peacock A.J.: Role of serotonin in the pathogenesis of acute and chronic pulmonary hypertension. *Thorax*, 1999; 54: 161-168
- [22] Fishman A.P.: Etiology and pathogenesis of primary pulmonary hypertension: a perspective. *Chest*, 1998; 114 (Suppl. 3): 242S-247S
- [23] Frishman W.H., Huberfeld S., Okin S., Wang Y.H., Kumar A., Shaareef B.: Serotonin and serotonin antagonism in cardiovascular and non-cardiovascular disease. *J. Clin. Pharmacol.*, 1995; 35: 541-572
- [24] Fujimori H., Ozaki K., Nomura S., Nishikawa T., Pan-Hou H., Nishimura M., Narama I.: Characterization of platelet abnormalities of Tester Moriyama (TM) rats with storage pool deficiency. *Lab. Anim. Sci.*, 1998; 48: 490-495
- [25] Fujita H., Fukumoto Y., Saji K., Sugimura K., Demachi J., Nawata J., Shimokawa H.: Acute vasodilator effects of inhaled fasudil, a specific Rho-kinase inhibitor, in patients with pulmonary arterial hypertension. *Heart Vessels*, 2010; 25: 144-149
- [26] Fukumoto Y., Tawara S., Shimokawa H.: Recent progress in the treatment of pulmonary arterial hypertension: expectation for rho-kinase inhibitors. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2007; 211: 309-320
- [27] Fuso L., Baldi F., Di Perna A.: Therapeutic strategies in pulmonary hypertension. *Front. Pharmacol.*, 2011; 2: 21
- [28] Galie N., Torbicki A., Barst R., Darteville P., Haworth S., Higenbottam T., Olschewski H., Peacock A., Pietra G., Rubin L.J., Simonneau G., Priori S.G., Garcia M.A., Blanc J.J., Budaj A. i wsp.: Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. The Task Force on Diagnosis and Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart. J.*, 2004; 25: 2243-2278
- [29] Galli A., Petersen C.I., deBlaquiere M., Blakely R.D., DeFelice L.J.: *Drosophila* serotonin transporters have voltage-dependent uptake coupled to a serotonin-gated ion channel. *J. Neurosci.*, 1997; 17: 3401-3411
- [30] Ghofrani H.A., Morrell N.W., Hoeper M.M., Olschewski H., Peacock A.J., Barst R.J., Shapiro S., Golpon H., Toshner M., Grimminger F., Pascoe S.: Imatinib in pulmonary arterial hypertension patients with inadequate response to established therapy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010; 182: 1171-1177
- [31] Grupa Robocza Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego do spraw rozpoznawania i leczenia nadciśnienia płucnego, Europejskie Towarzystwo Oddechowe, Międzynarodowe Towarzystwo Przeszczepiania Serca i Płuc. Wytyczne dotyczące rozpoznawania i leczenia nadciśnienia płucnego. *Kardiolog. Pol.*, 2009; 67 (Suppl. 7): 491-544
- [32] Guignabert C., Izikki M., Tu L.I., Li Z., Zadigue P., Barlier-Mur A.M., Hanoun N., Rodman D., Hamon M., Adnot S., Eddahibi S.: Transgenic mice overexpressing the 5-hydroxytryptamine transporter gene in smooth muscle develop pulmonary hypertension. *Circ. Res.*, 2006; 98: 1323-1330
- [33] Guilluy C., Eddahibi S., Agard C., Guignabert C., Izikki M., Tu L., Savale L., Humbert M., Fadel E., Adnot S., Loirand G., Pacaud P.: RhoA and Rho kinase activation in human pulmonary hypertension: role of 5-HT signaling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 179: 1151-1159
- [34] Hervé P., Launay J.M., Scrobohaci M.L., Brenot F., Simonneau G., Petitpretz P., Poubeau P., Cerrina J., Duroux P., Drouet L.: Increased plasma serotonin in primary pulmonary hypertension: results of the randomized IMPRES study. *Circulation*, 2013; 127: 1128-1138
- [35] Hironaka E., Hongo M., Sakai A., Mawatari E., Terasawa F., Okumura N., Yamazaki A., Ushiyama Y., Yazaki Y., Kinoshita O.: Serotonin receptor antagonist inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension and prolongs survival in rats. *Cardiovasc. Res.*, 2003; 60: 692-699
- [36] Hoeper M.M., Barst R.J., Bourge R.C., Feldman J., Frost A.E., Galie N., Gómez-Sánchez M.A., Grimminger F., Grünig E., Hassoun P.M., Morrell N.W., Peacock A.J., Satoh T., Simonneau G., Tapon V.F., Torres F., Lawrence D., Quinn D.A., Ghofrani H.A.: Imatinib mesylate as add-on therapy for pulmonary arterial hypertension: results of the randomized IMPRES study. *Circulation*, 2013; 127: 1128-1138
- [37] Houtchens J., Martin D., Klinger J.R.: Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension. *Pulm. Med.*, 2011; 2011: 845864
- [38] Humbert M., Morrell N.W., Archer S.L., Stenmark K.R., MacLean M.R., Lang I.M., Christman B.W., Weir E.K., Eickelberg O., Voelkel N.F., Rabinovitch M.: Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43 (Suppl. 12): 13S-24S
- [39] Humbert M., Sitbon O., Chaouat A., Bertocchi M., Habib G., Gressin V., Yaici A., Weitzenblum E., Cordier J.F., Chabot F., Dromer C., Pison C., Reynaud-Gaubert M., Haloun A., Laurent M., Hachulla E., Simonneau G.: Pulmonary arterial hypertension in France: results from a national registry. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 173: 1023-1030
- [40] Izikki M., Hanoun N., Marcos E., Savale L., Barlier-Mur A.M., Saurini F., Eddahibi S., Hamon M., Adnot S.: Tryptophan hydroxylase 1 knockout and tryptophan hydroxylase 2 polymorphism: effects on hypoxic pulmonary hypertension in mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2007; 293: L1045-L1052

- [41] Kawut S.M., Horn E.M., Berekashvili K.K., Lederer D.J., Widlitz A.C., Rosenzweig E.B., Barst R.J.: Selective serotonin reuptake inhibitor use and outcomes in pulmonary arterial hypertension. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2006; 19: 370-374
- [42] Kay J.M., Smith P., Heath D.: Aminorex and the pulmonary circulation. *Thorax*, 1971; 26: 262-270
- [43] Keegan A., Morecroft I., Smillie D., Hicks M.N., MacLean M.R.: Contribution of the 5-HT_{1B} receptor to hypoxia-induced pulmonary hypertension: converging evidence using 5-HT_{1B}-receptor knockout mice and the 5-HT_{1B/1D}-receptor antagonist GR127935. *Circ. Res.*, 2001; 89: 1231-1239
- [44] Launay J.M., Hervé P., Peoc'h K., Tournois C., Callebort J., Nebigil C.G., Etienne N., Drouet L., Humbert M., Simonneau G., Maroteaux L.: Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension. *Nat. Med.*, 2002; 8: 1129-1135
- [45] Lawrie A., Spiekerkoetter E., Martinez E.C., Ambartsumian N., Sheward W.J., MacLean M.R., Harmar A.J., Schmidt A.M., Lukanidin E., Rabinovitch M.: Interdependent serotonin transporter and receptor pathways regulate S100A4/Mts1, a gene associated with pulmonary vascular disease. *Circ. Res.*, 2005; 97: 227-235
- [46] Lee S.L., Wang W.W., Finlay G.A., Fanburg B.L.: Serotonin stimulates mitogen-activated protein kinase activity through the formation of superoxide anion. *Am. J. Physiol.*, 1999; 277: L282-L291
- [47] Lee S.L., Wang W.W., Lanzillo J.J., Fanburg B.L.: Regulation of serotonin-induced DNA synthesis of bovine pulmonary artery smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 1994; 266: L53-L60
- [48] Liu Y.L., Suzuki Y.J., Day R.M., Fanburg B.L.: Rho kinase-induced nuclear translocation of ERK1/ERK2 in smooth muscle cell mitogenesis caused by serotonin. *Circ. Res.*, 2004; 95: 579-586
- [49] Machado R.D., Koehler R., Glissmeyer E., Veal C., Suntharalingam J., Kim M., Carlquist J., Town M., Elliott C.G., Hoepfer M., Fijalkowska A., Kurzyrna M., Thomson J.R., Gibbs S.R., Wilkins M.R., Seeger W., Morrell N.W., Gruenig E., Trembath R.C., Janssen B.: Genetic association of the serotonin transporter in pulmonary arterial hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 173: 793-797
- [50] MacIntyre P.D., Bhargava B., Hogg K.J., Gemmill J.D., Hillis W.S.: The effect of i.v. sumatriptan, a selective 5-HT₁-receptor agonist on central haemodynamics and the coronary circulation. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1992; 34: 541-546
- [51] MacLean M.R.: Pulmonary hypertension, anorexigens and 5-HT: pharmacological synergism in action? *Trends Pharmacol. Sci.*, 1999; 20: 490-495
- [52] MacLean M.R., Clayton R.A., Templeton A.G., Morecroft I.: Evidence for 5-HT₁-like receptor-mediated vasoconstriction in human pulmonary artery. *Br. J. Pharmacol.*, 1996; 119: 277-282
- [53] MacLean M.R., Dempsey Y.: The serotonin hypothesis of pulmonary hypertension revisited. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2010; 661: 309-322
- [54] MacLean M.R., Deuchar G.A., Hicks M.N., Morecroft I., Shen S., Sheward J., Colston J., Loughlin L., Nilsen M., DEMPSEY Y., Harmar A.: Overexpression of the 5-hydroxytryptamine transporter gene: effect on pulmonary hemodynamics and hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*, 2004; 109: 2150-2155
- [55] MacLean M.R., Herve P., Eddahibi S., Adnot S.: 5-hydroxytryptamine and the pulmonary circulation: receptors, transporters and relevance to pulmonary arterial hypertension. *Br. J. Pharmacol.*, 2000; 131: 161-168
- [56] Mair K.M., MacLean M.R., Morecroft I., DEMPSEY Y., Palmer T.M.: Novel interactions between the 5-HT transporter, 5-HT_{1B} receptors and Rho kinase in vivo and in pulmonary fibroblasts. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 155: 606-616
- [57] Marcos E., Fadel E., Sanchez O., Humbert M., Dartevelle P., Simonneau G., Hamon M., Adnot S., Eddahibi S.: Serotonin-induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension. *Circ. Res.*, 2004; 94: 1263-1270
- [58] Morecroft I., DEMPSEY Y., Bader M., Walther D.J., Kotnik K., Loughlin L., Nilsen M., MacLean M.R.: Effect of tryptophan hydroxylase 1 deficiency on the development of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Hypertension*, 2007; 49: 232-236
- [59] Morecroft I., Heeley R.P., Prentice H.M., Kirk A., MacLean M.R.: 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in human small muscular pulmonary arteries: importance of the 5-HT_{1B} receptor. *Br. J. Pharmacol.*, 1999; 128: 730-734
- [60] Morecroft I., Loughlin L., Nilsen M., Colston J., DEMPSEY Y., Sheward J., Harmar A., MacLean M.R.: Functional interactions between 5-hydroxytryptamine receptors and the serotonin transporter in pulmonary arteries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005; 313: 539-548
- [61] Morecroft I., Pang L., Baranowska M., Nilsen M., Loughlin L., DEMPSEY Y., Millet C., MacLean M.R.: *In vivo* effects of a combined 5-HT_{1B} receptor/SERT antagonist in experimental pulmonary hypertension. *Cardiovasc. Res.*, 2010; 85: 593-603
- [62] Mouchaers K.T., Schallij I., de Boer M.A., Postmus P.E., van Hinsbergh V.W., van Nieuw Amerongen G.P., Vonk Noordegraaf A., van der Laarse W.J.: Fasudil reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: comparison with bosentan and sildenafil. *Eur. Respir. J.*, 2010; 36: 800-807
- [63] Moudgil R., Michelakis E.D., Archer S.L.: Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *J. Appl. Physiol.*, 2005; 98: 390-403
- [64] Ni W., Watts S.W.: 5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT). *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2006; 33: 575-583
- [65] Oka M., Homma N., Taraseviciene-Stewart L., Morris K.G., Krasauskas D., Burns N., Voelkel N.F., McMurtry I.F.: Rho kinase-mediated vasoconstriction is important in severe occlusive pulmonary arterial hypertension in rats. *Circ. Res.*, 2007; 100: 923-929
- [66] Pan J., Copland I., Post M., Yeger H., Cutz E.: Mechanical stretch-induced serotonin release from pulmonary neuroendocrine cells: implications for lung development. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2006; 290: L185-L193
- [67] Passowicz-Muszyńska E., Gostkowska-Malec A., Jankowska R.: Nadciśnienie płucne i zatorowość płucna w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc. *Pol. Merk. Lekarski*, 2009; 27: 136-139
- [68] Peacock A.J., Murphy N.F., McMurray J.J., Caballero L., Stewart S.: An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. J.*, 2007; 30: 104-109
- [69] Peroutka S.J.: Serotonin receptors. W: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Meltzer H.Y. (red), Raven Press, New York, 1987; 303-311
- [70] Pietra G.G., Capron F., Stewart S., Leone O., Humbert M., Robbins I.M., Reid L.M., Tudor R.M.: Pathologic assessment of vasculopathies in pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43 (Suppl. 12): 25S-32S
- [71] Pleyman H., Greiff G., Mjorndal T., Stenseth R., Wahba A., Spigset O.: Effect of serotonin reuptake inhibitors on pulmonary hemodynamics in humans. *J. Clin. Med. Res.*, 2011; 3: 230-238
- [72] Rabinovitch M.: Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J. Clin. Invest.*, 2012; 122: 4306-4313
- [73] Raja S.G., Raja S.M.: Treating pulmonary arterial hypertension: current treatments and future prospects. *Ther. Adv. Chronic Dis.*, 2011; 2: 359-370
- [74] Rothman R.B., Ayestas M.A., Dersch C.M., Baumann M.H.: Aminorex, fenfluramine, and chlorphentermine are serotonin transporter substrates. Implications for primary pulmonary hypertension. *Circulation*, 1999; 100: 869-875
- [75] Sato K., Webb S., Tucker A., Rabinovitch M., O'Brien R.F., McMurtry I.F., Stelzner T.J.: Factors influencing the idiopathic development of pulmonary hypertension in the fawn hooded rat. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992; 145: 793-797

- [76] Schermuly R.T., Dony E., Ghofrani H.A., Pullamsetti S., Savai R., Roth M., Sydykov A., Lai Y.J., Weissmann N., Seeger W., Grimminger F.: Reversal of experimental pulmonary hypertension by PDGF inhibition. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 2811-2821
- [77] Simonneau G., Robbins I.M., Beghetti M., Channick R.N., Delcroix M., Denton C.P., Elliott C.G., Gaine S.P., Gladwin M.T., Jing Z.C., Krowka M.J., Langleben D., Nakanishi N., Souza R.: Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2009; 54 (Suppl. 1): S43-S54
- [78] Sitbon O., Morrell N.: Pathways in pulmonary arterial hypertension: the future is here. *Eur. Respir. Rev.*, 2012; 21: 321-327
- [79] Suzuki Y.J., Day R.M., Tan C.C., Sandven T.H., Liang Q., Molkentin J.D., Fanburg B.L.: Activation of GATA-4 by serotonin in pulmonary artery smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 17525-17531
- [80] Thomas M., Ciuculan L., Hussey M.J., Press N.J.: Targeting the serotonin pathway for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Pharmacol. Ther.*, 2013; 138: 409-417
- [81] Tudor R.M., Abman S.H., Braun T., Capron F., Stevens T., Thistlethwaite P.A., Haworth S.G.: Development and pathology of pulmonary hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2009; 54 (Suppl. 1): S3-S9
- [82] Walther D.J., Bader M.: A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.*, 2003; 66: 1673-1680
- [83] Watts S.W., Davis R.P.: 5-hydroxytryptamine receptors in systemic hypertension: an arterial focus. *Cardiovasc. Ther.*, 2011; 29: 54-67
- [84] Welsh D.J., Harnett M., MacLean M., Peacock A.J.: Proliferation and signaling in fibroblasts: role of 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor and transporter. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004; 170: 252-259

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.