

Serotonine en bloeddruk

A.J.J. Woittiez

Serotonine en bloeddruk (Serotonin and blood pressure)

Proefschrift

ter verkrijging van de graad van doctor
aan de Erasmus Universiteit Rotterdam
op gezag van de Rector Magnificus
Prof. Dr. A.H.G. Rinnooy Kan
en volgens besluit van het College van Dekanen.
De openbare verdediging zal plaatsvinden op
woensdag 26 april te 15.45 uur.

door

Arend Jan Jacob Woittiez

Geboren te Zuidland

Promotiecommissie

Promotor : Prof. Dr. M.A.D.H. Schalekamp
Overige leden : Prof. Dr. W.H. Birkenhäger
Prof. Dr. S.W.J. Lamberts
Prof. Dr. P.R. Saxena

Dit proefschrift is bewerkt op de afdeling Inwendige Geneeskunde I (hoofd: Prof. Dr. M.A.D.H. Schalekamp) van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt.

Financiële en secretariële steun werd verleend door Janssen Pharmaceutica Nederland.

*Het is niet belangrijk om origineel te zijn,
het is belangrijk om voortreffelijk te zijn.
(Anoniem, Japan, ± 1700)*

Lijst van afkortingen

ACTH	adrenocorticotroop hormoon
ADP	adenosine difosfaat
ARDS	adult respiratory distress syndrome
DHE	dihydro ergotamine
EDRF	endothelium derived relaxant factor
5-HT	5-hydroxytryptamine = serotonine
5-HTP	5- hydroxytryptofaan
LSD	lysergzuur diëthylamide
MAO	monoamino oxydase
8-OHDPAT	8-hydroxy - 2 - propylaminetetaline
PCPA	parachloor phenylalanine
PDGF	platelet derived growth factor
PGF	prostaglandine-F

1 Serotonine: historische en fysiologische aspecten

15

- 1.1. Historische achtergrond
- 1.2. Doel van het proefschrift
- 1.3. Voorkomen van serotonine
- 1.4. Biochemische aspecten
 - 1.4.1. Synthese
 - 1.4.2. Transport en uptake
 - 1.4.3. Metabolisme
 - 1.4.4. Bepalingsmethode en distributie
- 1.5. Fysiologische effecten
 - 1.5.1. Vaatstelsel
 - 1.5.2. Hart
 - 1.5.3. Maagdarmsstelsel
 - 1.5.4. Ademhalingstelsel
 - 1.5.5. Urogenitale stelsel
 - 1.5.6. Hormonen
 - 1.5.7. Centrale zenuwstelsel
 - 1.5.8. Bewegingsapparaat
- 1.6. Samenvatting

2 Serotonine; bloeddruk en hypertensie

41

- 2.1. Inleiding
- 2.2. Perifere effecten van serotonine op bloeddruk
- 2.3. Centrale effecten van serotonine op bloeddruk
 - 2.3.1. Directe elektrische stimulatie van mesencefale kernen
 - 2.3.2. Verhoging van het centrale endogene serotonine gehalte
 - 2.3.3. Centrale serotonine depletie.
 - 2.3.4. Destructie van serotonerge structuren.
 - 2.3.5. Centrale toediening van serotonine en serotonine antagonisten
- 2.4. Serotonine en hypertensie
 - 2.4.1. Inleiding
 - 2.4.2. Serotonine en effecten op bloedvaten bij hypertensie
 - 2.4.3. Serotonine en trombocyten bij hypertensie

- 2.4.4. Serotonine en endotheel bij hypertensie
- 2.5. Serotonine en het renine-aldosteron systeem
- 2.6. Samenvatting

3 Serotonine receptoren en- antagonisten

59

- 3.1. Klassificatie van receptoren
 - 3.1.1. D- en M receptoren
 - 3.1.2. 5-HT₁, 5-HT₂ en 5-HT₃ receptoren
- 3.2. Localisatie van en effecten gemedieerd door 5-HT₁, 5-HT₂ en 5-HT₃ receptoren
 - 3.2.1. 5-HT₁-receptoren
 - 3.2.2. 5-HT₂-receptoren
 - 3.2.3. 5-HT₃-receptoren
- 3.3. Serotonine-antagonisten
 - 3.3.1. Inleiding
 - 3.3.2. "Klassieke" serotonine-antagonisten
 - 3.3.3. Recent ontwikkelde serotonine antagonisten
- 3.4. Samenvatting

4 Acute effecten van ketanserin intraveneus Studies bij patiënten met essentiële hypertensie, patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van respiratoire insufficiëntie en bij patiënten met autonome insufficiëntie

76

- 4.1. Inleiding
- 4.2. Patiënten
 - 4.2.1. Patiënten met essentiële hypertensie
 - 4.2.2. Patiënten met pulmonale hypertensie t.g.v. respiratoire insufficiëntie
 - 4.2.3. Patiënten met autonome insufficiëntie
- 4.3. Methoden
 - 4.3.1. Bloeddruk en hartfrequentie
 - 4.3.2. Centrale drukken en hartminuutvolume
 - 4.3.3. Renale haemodynamiek
 - 4.3.4. Onderarm- en vingerflow
 - 4.3.5. Perifere temperatuur
 - 4.3.6. Protocollen en statistiek

- 4.4. Resultaten
 - 4.4.1. Bloeddruk en hartfrequentie
 - 4.4.2. Effecten op centrale drukken en hartminuutvolume
 - 4.4.3. Effecten op nierfunctie
 - 4.4.4. Effecten op perifere circulatie
- 4.5. Discussie
 - 4.5.1. Bloeddruk en hartfrequentie
 - 4.5.2. Centrale drukken, hartminuutvolume en vaatweerstand
- 4.6. Samenvatting

5 Het mechanisme van het bloeddrukverlagend effect van ketanserin

98

- 5.1. Inleiding
- 5.2. Patiënten en methoden
 - 5.2.1. Phenylephrine-injecties en baroreflexgevoeligheid vóór en na ketanserin en na prazosine toediening.
 - 5.2.2. Respons op ketanserin vóór en na diureticum en vóór en na prazosine.
 - 5.2.3. Patiënten met autonome insufficiëntie
- 5.3. Resultaten
 - 5.3.1. Phenylephrine responscurves voor en na ketanserin en na prazosine.
 - 5.3.2. Baroreflexgevoeligheid vóór en na ketanserin.
 - 5.3.3. Respons op ketanserin vóór en na diuretica en vóór en na prazosine.
 - 5.3.4. Effecten bij autonome insufficiëntie.
- 5.4. Discussie
 - 5.4.1. Studies met α -adrenerge agonisten en antagonist
 - 5.4.2. Studies na voorbehandeling met andere anti-hypertensiva en studies bij patiënten met autonome insufficiëntie
 - 5.4.3. Centrale werking van ketanserin
- 5.5. Samenvatting

6 Neurohumorale effecten van ketanserin. Studies bij patiënten met essentiële hypertensie en *in vitro* studies.

116

- 6.1. Inleiding
 - 6.1.1. Serotonine en renine
 - 6.1.2. Serotonine en aldosteron
 - 6.1.3. Serotonine en noradrenaline
- 6.2. Patiënten en methoden
 - 6.2.1. Analytische bepalingen
 - 6.2.2. Korte termijn studies met ketanserin
 - 6.2.3. Lange termijn studies met ketanserin
 - 6.2.4. *In vitro* studies met ketanserin
- 6.3. Resultaten
 - 6.3.1. Acute effecten *in vivo*.
 - 6.3.2. Chronische effecten *in vivo*.
 - 6.3.3. Effecten *in vitro*.
- 6.4. Discussie
 - 6.4.1. Renine
 - 6.4.2. Aldosteron
 - 6.4.3. Noradrenaline
- 6.5. Samenvatting

7 Chronische effecten van ketanserin

133

- 7.1. Inleiding
- 7.2. Patiënten en methoden
 - 7.2.1. Patiënten en studieprotocol
 - 7.2.2. Bloeddrukmetingen
 - 7.2.3. Plethysmografie
 - 7.2.4. Laboratoriumbepalingen
 - 7.2.5. Statistiek
- 7.3. Resultaten
 - 7.3.1. Effecten op bloeddruk en hartfrequentie
 - 7.3.2. Perifere haemodynamische veranderingen
 - 7.3.3. Biochemische effecten
 - 7.3.4. Bijwerkingen
- 7.4. Discussie
 - 7.4.1. Bloeddrukrespons
 - 7.4.2. Bijwerkingen
- 7.5. Samenvatting

8 Samenvatting en conclusies

156

- 8.1. Serotonine en hypertensie
- 8.2. Antihypertensieve effecten van ketanserin
 - 8.2.1. Acute effecten
 - 8.2.2. Chronische effecten
- 8.3. Mechanisme van het bloeddrukverlagend effect van ketanserin
 - 8.3.1. Perifere mechanismen
 - 8.3.2. Centrale mechanismen
 - 8.3.3. Renine en aldosteron
- 8.4. Ketanserin, serotonine en hypertensie

9 Summary and conclusions

166

- 9.1. Serotonin and hypertension
- 9.2. Antihypertensive effect of ketanserin
 - 9.2.1. Acute effects
 - 9.2.2. Chronic effects
- 9.3. Mechanism of antihypertensive effect of ketanserin
 - 9.3.1. Peripheral mechanisms
 - 9.3.2. Central mechanisms
 - 9.3.3. Renin and aldosterone
- 9.4. Ketanserin, serotonin and hypertension

Literatuur

173

Verantwoording

Curriculum vitae

Hoofdstuk 1

Serotonine: historische en fysiologische aspecten

1.1. Historische achtergrond

Bijna een eeuw geleden namen de Duitse fysiologen Ludwig en Schmidt (241) waar, dat de bloedstroom door een geïsoleerde hondespier afnam na doorleiden van gekoeld bloed (tabel 1.1.). De relatie tussen het stollen van bloed en het eventueel vrijkomen van een vasoconstrictor werd toen nog niet gelegd. Het lag voor de hand dat vooral aan een stof afkomstig van bloedplaatjes gedacht moest worden, daar die immers bij haemostase betrokken zijn. Gebruik makend van strips van de arteria carotis waren Jane-way en medewerkers in 1918 in staat aan te tonen dat ontstolde bloedmonsters geen, witte bloedcellen enige, en bloedplaatjes sterke vasoconstrictieve eigenschappen bezaten (voor een overzicht over de eerste waarnemingen zie 284). Opmerkelijk was de waarneming, dat de vasoconstrictieve werking grotendeels verdwenen was na eenmalige passage van het bloed door lever en long, hetgeen destijds nog niet geïnterpreteerd werd als inactivatie (369).

De belangstelling voor de "serumvasopressor" (vasotonine? renine? angiotensine?) nam in de dertiger jaren toe in het kader van het onderzoek naar mogelijke oorzaken van arteriële hypertensie. Page uit Cleveland was ervan overtuigd dat de gezochte stof een "renine" moest zijn, een hormoon afkomstig uit de nier; echter het gelukte hem niet dit hormoon te karakteriseren. In 1948 isoleerde zijn groep een substantie uit serum, die zowel geïsoleerde vaten (konijn-oor-arteriën) als geïsoleerde darmstrips deed contraheren: het

(kristallijne) 5-hydroxy-tryptamine-creatinine-sulfaat (314, 315).

Met behulp van kleurreacties en ultraviolet absorptiespectrofotometrie kon aannemelijk gemaakt worden, dat de stof een 5-hydroxy indol ring bevatte (284, 285, 316, 317, 318, zie ook 27). Omdat de substantie uit serum afkomstig was en vasoconstrictie veroorzaakte werd de naam serotonine voorgesteld.

Tabel 1.1. Mijlpalen in het onderzoek van serotonine

1868	Ludwig	vasoconstrictie door bloed
1918	Janeway	vasoconstrictor afkomstig uit plaatjes
1933	Erspamer	enterochromaffiene cellen
1948	Rapport & Page	karakterisering van serotonine
1951	Hamlin	synthese van serotonine
1952	Erspamer	serotonine is identiek aan enteramine
1957	Gaddum	identificatie van D- en M-receptoren
1981	Peroutka	identificatie van 5-HT ₁ - en 5-HT ₂ receptoren

Het serotonine werd in 1951 door Hamlin gesynthetiseerd (285). Inmiddels had Erspamer door middel van fluorescentie technieken een stof gekarakteriseerd, welke afkomstig bleek uit de enterochromaffiene cellen van de tractus digestivus (117). De actieve groep bleek een indol-alkyl-amine te zijn en werd derhalve de naam enteramine gegeven. Het enteramine bleek niet alleen in de darm voor te komen maar in vele weefsels van zowel gewervelden als niet-gewervelden. Uitgaande van de observatie dat enteramine belangrijke cardiovasculaire effecten bezat, gelukte het Erspamer en Asero met behulp van papierchromatografie en elementen analyse vast te stellen dat enteramine identiek was aan serotonine (116).

Tot dan toe werd aangenomen, dat serotonine alleen gesynthetiseerd werd in de enterochromaffiene cellen en daarna opgenomen en getransporteerd werd door trombocyten, waardoor ook het voorkomen van serotonine in de milt verklaard werd (117, 284, 285). Het aantonen van serotonine in de huid- en speekselklieren van amfibiën kon verklaard worden door de aanwezigheid van enterochromaffiene cellen.

Min of meer bij toeval, bij het testen van een bio-assay van serotonine, vonden Twarog en Page opvallend veel serotonine in ratte-, honde- en konijnhersenen (285). Door deze ontdekking kwamen de mogelijke functies van serotonine in een heel ander daglicht te staan. Het enteramine van Erspamer zou niet alleen een autocoid in de tractus digestivus en het serotonine van Page niet alleen een humorale vasoconstrictor kunnen zijn; de gedachte dat 5-hydroxytryptamine (5-HT) ook als neurotransmitter kon functioneren won steeds meer veld. Deze gedachte vond ondermeer steun in het feit dat

sommige hallucinogenen zoals LSD qua structuur gelijkenis tonen met 5-HT (140). De mogelijke relatie tussen gedrag en gedragsafwijkingen (schizofrenie, depressie) enerzijds en serotonine stofwisseling anderzijds werd gelegd door Brodie op grond van de waarneming dat de tranquilizer reserpine de serotonine concentratie in hersenweefsels verlaagde (zie: 104). Hoewel nadien bij vele psychiatrische ziektebeelden stoornissen in de serotonine huishouding gesuggereerd werden bleef het vooralsnog onduidelijk welke rol serotonine speelt in het tot stand komen van menselijk gedrag of afwijkingen daarvan (zie voor overzicht 118). Thans hebben vooral de serotonine-opname-remmers een plaats gevonden in de behandeling van depressieve beelden.

Dat de relatie tussen serotonine en bloeddruk echter niet zo eenvoudig lag als de naam leek te suggereren blijkt uit het feit dat voor de tegengestelde effecten van 5-hydroxytryptamine (intraveneus) zelfs een nieuwe naam gecreëerd werd: amphibarisch effect (283). Serotonine bleek zeer wisselende effecten op bloedvaten te hebben, afhankelijk van vaatbed, diersoort, vaatkaliber, vaattonus en interactie met andere vaso-actieve stoffen (170, 171, 283). Een Zweedse groep onder leiding van Dahlström heeft veel werk verricht over centrale serotonerge zenuwbanen (overzichtsartikel: 223, 286). Vooral de raphe nucleus medianus blijkt zeer rijk serotonerg geïnnerveerd te zijn, daarmee een rol voor centrale serotonerge bloeddrukregulatie suggererend. Nadien zijn vele studies, voornamelijk met ratten, verschenen waarin bevestigd wordt dat de centrale bloeddrukregulatie in ieder geval voor een deel via serotonerge mechanismen verloopt. Het onderzoek naar de relatie tussen serotonine en bloeddruk werd gecompliceerd door aselectieve en agonistische eigenschappen van sommige serotonine antagonisten (104, 169).

Door bovengenoemde gegevens waren de effecten van serotonine en serotonine antagonisten op de bloeddruk dermate moeilijk te bestuderen, dat de belangstelling voor serotonine enigszins verflauwde. De interesse werd nieuw leven ingeblazen nadat een nieuwe klassificatie van serotonine receptoren, naast de klassieke indeling, werd voorgesteld door Peroutka en Snyder (292). Met behulp van radioligandbindingsexperimenten op rattehersen werden twee 5-hydroxytryptamine bindingsplaatsen c.q. receptoren onderscheiden: 5-HT₁-receptoren en 5-HT₂-receptoren. Met name de 5-HT₂-receptor bleek de vasculaire effecten van serotonine te mediëren (294, 295). Begin 1980 werd een nieuwe serotonine antagonist ontwikkeld: ketanserin. Deze stof bleek geen agonistische eigenschappen te bezitten en zich vrij specifiek aan de serotoninereceptor en selectief aan de 5-HT₂ receptor te binden. Met behulp van deze serotonine antagonist werd het opnieuw mogelijk de rol van serotonine bij het ontstaan of onderhouden van hypertensie te bestuderen.

1.2. Doel van het proefschrift

In dit proefschrift wordt enerzijds gepoogd een overzicht te geven van aan literatuur ontleende gegevens, die betrekking hebben op functie van serotonine bij de regulatie van de bloeddruk. Vooral wordt ingegaan op de mogelijke betekenis van serotonine bij de pathogenese van hypertensie.

Anderzijds wordt in dit proefschrift verslag gedaan van eigen onderzoek, dat gericht is op de rol die serotonine mogelijkerewijs speelt bij het ontstaan en onderhouden van hypertensie. Bij dit onderzoek is vooral gebruik gemaakt van de nieuw ontwikkelde 5-HT₂ receptor antagonist ketanserin, waarvan de effecten bij patiënten met essentiële hypertensie bestudeerd werden.

1.3. Voorkomen van serotonine in de natuur

Misschien is geen stof zo bizar verdeeld over de levende flora en fauna als serotonine. Het distributiepatroon is dermate uitgebreid dat hieruit geen redelijke conclusie t.a.v. functies getrokken kan en mag worden. Vooral de groep van Erspamer heeft uitgebreid studie gemaakt van het voorkomen van serotonine in het enterochromaffiene systeem bij uiteenlopende diersoorten (117). Minstens vierhonderd diersoorten zijn onderzocht; van de eenenveertig onderzochte amfibiën blijkt de pad (*Bombinator Pachycus*) verreweg het hoogste serotonine gehalte te hebben: bijna 1000 µg/g droog gewicht. Serotonine wordt aangetroffen in enterochromaffiene cellen van vrijwel alle diersoorten, behalve bij de cyclostomata en teleostei. Deze vissoorten hebben blijkbaar in de evolutie het vermogen om serotonine te produceren verloren. Bij deze vissen is dan ook geen serotonine in bloed of serum aantoonbaar; een indirect bewijs dat de enterochromaffiene cel de bron van het endogene serotonine is. Deze cellen van het primitieve endoderm, die op grond van hun kleuringseigenschappen met zilver en/of diazonium enterochromaffiene cellen genoemd worden, worden aangetroffen in de mucosa van de gehele tractus digestivus, met name in het ileum en de pancreas, doch ook in de longen, de thymus, de glandula thyroidea, de urethra en de prostaat (118, 302).

Serotonine bevattende neuronen van het centrale zenuwstelsel worden in grote getale aangetroffen in de raphe nucleus van de hersenstam en in zeer grote hoeveelheden in de glandula pinealis (23, 104, 286, 309). Recent zijn ook serotonine bevattende neuronen ontdekt in perifere zenuwen met name in de plexus myentericus, het ganglion nodosum van de kat en in de vertebrale arteriën van het konijn. (144, 147).

De serotonine-opname en opslag in trombocyten wordt elders in dit hoofd-

stuk beschreven. Tenslotte is er ook serotonine aangetoond in de atria van konijnen en ratten en in mestcellen van de muis (368). Zelfs in het plantenrijk is serotonine rijk voorhanden met name in bananen, walnoten, ananas en palmladeren. Sommige tryptamines van plantaardige origine zijn allang bekend als hallucinogene stoffen in het Caraïbisch gebied (*Psilocibe Mexicana*), waarschijnlijk berustend op centrale effecten van gevormd serotonine (104). Eveneens is een relatie gelegd tussen de inname van grote hoeveelheden serotonine bevattend voedsel (walnoten, bananen) en het ontstaan van endocardiale fibrose.

Meer dan een voorzichtige conclusie dat serotonine geassocieerd is met hersenfuncties en met regulatie van bloedsomloop en spijsverteringssysteem mag uit het verspreidingspatroon van deze stof in de natuur niet getrokken worden.

1.4. Biochemische aspecten

1.4.1. Synthese van serotonine

Hoewel serotonine in grote hoeveelheden in het normale dieet wordt aangetroffen is de opname via het darmlumen maar zeer gering en slechts een fractie wordt opgenomen in de circulatie. Serotonine wordt voornamelijk in situ gesynthetiseerd uit het essentiële aminozuur tryptofaan (47, 140). Dit proces vindt plaats in de APUD (amino-precursor-uptake and-decarboxylase) cellen van het enterochromaffine systeem in de darmmucosa, de galwegen, het pancreas, de schildklier en de bijnier (7, 8, 47, 147, 289). Verder vindt synthese plaats in serotonerge neuronen van de hypothalamus en glandula pinealis (23, 49, 309), en van de plexus myentericus in de tractus digestivus en van de paravertebrale ganglia (144, 147, 403); verder ook in cellen van carcinoïd tumor, mestcellen van de muis en misschien ook in de nier (146, 147).

Slechts een fractie (minder dan 5 procent) van het L-tryptofaan wordt in twee stappen gemetaboliseerd tot serotonine, met een synthese-snelheid van ± 10 mg/dag (375). Het L-tryptofaan wordt in de eerste stap gehydroxyleerd tot 5-OH-tryptofaan onder invloed van het stereo-specifieke L-tryptofaan hydroxylase. Dit enzym is specifiek gelocaliseerd in cytosol van cellen die serotonine synthetiseren, zodat L-tryptofaan-hydroxylase activiteit als marker voor deze cellen functioneert. De tweede stap betreft decarboxylatie door L-amino-decarboxylase, een enzym dat ook betrokken is bij de biosynthese van catecholamines en decarboxylatie van aminozuren. Dit enzym wordt dan ook in vele weefsels zoals hart, nier en long, aangetroffen en is, in tegenstelling tot tryptofaan-hydroxylase, niet specifiek voor serotonine synthetiserende cellen (368).

1.4.2. Transport en opname van serotonine

Het "vrije" serotonine wordt slechts in zeer geringe hoeveelheden (tot 20 ng/ml) in de circulatie en dan nog vrijwel alleen in de vena portae aangehouden (8, 151). Het intacte organisme beschikt over een aantal mechanismen om cellen en celstructuren tegen een overmaat van vrij serotonine te beschermen te weten:

- 1) Binding aan eiwitten
- 2) Opname door trombocyten
- 3) Opname door endotheel
- 4) Inactivatie en metabolisatie in de lever

Binding aan eiwitten:

Zoals vele neurotransmitters of hormonen wordt 5-hydroxytryptamine in de bloedbaan gebonden aan eiwitten waaronder albumine. Recent is door Gershon een specifiek serotonine bindend eiwit beschreven: serotonectine. Dit glycoproteïne ($M=200\text{kD}$) onderscheidt zich van een ander serotonine bindend eiwit (het hersen-neuroectodermale-serotonine bindend eiwit) door het molecuulgewicht, dissociatie constante en extracellulaire localisatie op de buitenzijde van de trombocyten. Serotonectine speelt misschien een rol bij de opname van serotonine door trombocyten (147).

Opname door trombocyten:

Vrijwel de totale lichaamshoeveelheid 5-hydroxytryptamine wordt opgeslagen in trombocyten in de zogenaamde dense granules (353, 371). In deze granula wordt serotonine waarschijnlijk gebonden tot een stabiel complex met adenosine triphosfaat (ATP), calcium en magnesium (86, 191, 353) en is in die formatie niet toegankelijk voor mono-aminoöxidase. Het serotonine gehalte in plaatjes wisselt per speciës en varieëert bij de mens tussen de 0.5-1.5 μg (1-5 nmol) per 10^9 cellen (158, 360). Hoewel trombocyten dus een grote hoeveelheid serotonine bevatten, komt het enzym tryptofaanhydroxylase niet of nauwelijks in trombocyten voor. Het lijkt derhalve niet waarschijnlijk dat trombocyten tot serotonine synthese in staat zijn (339, 353, 360). Normale trombocyten beschikken over een enorme opname-capaciteit voor serotonine, met een V_{max} in de eerste 60 seconden van 0,4 - 0,6 nmol 5-HT/ 10^9 plaatjes/minuut (95, 158, 435). De opname gaat via een actief en passief transport. Het passief transport verloopt via diffusie op grond van concentratie verschillen, is temperatuur afhankelijk en wordt niet beïnvloed

door medicamenten (95, 158, 159, 356).

Veel efficiënter en fysiologisch veel belangrijker is het actieve transport-mechanisme. Dit proces kan serotonine tegen hoge concentratie gradiënten in (1 op 1000) transporteren, is verzadigbaar (K_m 0,4 - 0,7 M) en is min of meer specifiek voor serotonine (44, 95, 159, 216, 240, 331, 356). De invloed op het actieve serotonine transport van transmembrane natrium en kalium-gradiënten, pH verschillen en concentraties wijzen in de richting van de natrium-kalium-ATP-ase afhankelijke pomp als drijvende kracht voor dit opname proces (44, 216, 331, 360).

Verschillende, ook bij hypertensie klinisch toegepaste farmaca, hebben een remmende invloed op dit opname mechanisme. Met name de tricyclische anti-depressiva (imipramine, chlorimipramine) zijn in dit opzicht uitgebreid bestudeerd (95, 353). Ook van andere anti-depressiva zoals fluoxetine (95), van antihypertensiva zoals propranolol (331), verapamil (5) lidoflazine (91) en van farmaca als physostigmine (319) en steroïden (230, 231) wordt remming van de actieve serotonine opname beschreven.

Dat de actieve serotonine opname door de trombocyten geschiedt via activatie van de serotonine receptor is waarschijnlijk maar welk subtype dit betreft is nog onduidelijk. Twee onafhankelijke groepen onderzoekers definiëerden twee soorten serotonine receptoren op de trombocyt: De A-receptor, lage affiniteit en mogelijk aggregatie mediërend en de B-receptor, hoge affiniteit en waarschijnlijk opname mediërend (299). De recent gedefinieerde 5-HT₂ receptoren zijn aangetoond op de trombocytmembraan met behulp van binding door ³H-ketanserin (235). Deze bindingsplaatsen mediëren de vormverandering (shape change) en aggregatie van trombocyten, doch niet de opname van serotonine (90, 339).

Het proces van serotonine opname door celmembraan en opslag in granula van trombocyten lijkt op grond van kinetiek en farmacologische beïnvloeding met behulp van centraal werkende middelen (reserpine) vergelijkbaar met dat van de centrale serotonerge neuronen. Derhalve kon een aantrekkelijk concept ontwikkeld worden, waarbij de opname, opslag en ook release van serotonine door trombocyten als model kon staan voor analoge processen in het centrale zenuwstelsel (95, 283-286, 353, 356).

Opname door endotheel:

Inactivatie door opname en metabolisatie van serotonine vindt plaats aan de endotheelcellen van vooral lever en long, maar ook in perifere vaatbedden (151, 210, 286). De lever kan tot 80 procent van de aangeboden hoeveelheid serotonine extraheren (369), waarschijnlijk door eenvoudige deaminatie met mono-amine oxydase. Die fractie van serotonine die ontsnapt aan

deze extractie bereikt de longvasculatuur, een bij uitstek geschikt filter geschakeld tussen linker en rechter hartshelft. Reeds in 1925 vonden Starling en Verney dat de vasoconstrictieve werking van bloed sterk verminderd kon worden door de bloedstroom langs longen te leiden. Deze bevindingen werden later bevestigd, waarbij de longen van *in vivo* geperfundeerde honden 90 procent van het geïnfundeerde serotonine extraheerden (369).

Uitgebreide, meer recente, studies bij patiënten die cardiovasculaire chirurgie ondergingen, toonden dat de "single-pass-removal" van 8×10^{-9} M¹⁴C-serotonine door het longendotheel 87 procent bedroeg (59). Deze zeer snelle inactivatie van serotonine door het longendotheel is een temperatuur en energie afhankelijk proces en, gelet op de remming met ouabaine, laag natrium en hoog kalium, waarschijnlijk afhankelijk van een functionerende natrium-kalium-ATPase-pomp (148). Hoewel vergelijkbaar met de opname van noradrenaline door adrenerge zenuwuiteinden is deze vorm van inactivatie specifiek voor serotonine, omdat voorbehandeling met 6-OH-dopamine het proces niet beïnvloedt (148-150). Ook endotheelcellen van de perifere vasculatuur, zoals aorta, arteria femoralis en arteria cerebialis, beschikken over een serotonine-opname mechanisme, vergelijkbaar met dat van het longendotheel (210, 403).

1.4.3. Metabolisme

Ongeveer 98 procent van serotonine ondergaat oxydatieve deaminatie door mono-amine-oxydase, (47, 104, 118, 375). Dit enzym is ook betrokken bij de inactivatie van catecholamines en theoretisch gezien zou een interactie tussen serotonine en catecholamines verklaard kunnen worden uit een competitie ten opzichte van mono-amine-oxydase (MAO). Het gevormde 5-hydroxyindolacetaldehyde wordt of verder geoxydeerd tot 5-hydroxyindolazijnzuur (5-HIAA) of (voor + 10 procent) gereduceerd door alcoholdehydrogenase tot 5-hydroxytryptophol (5-HTOL). Deze laatste stap wordt vooral geactiveerd door ethylalcohol, waarbij de reductie route gestimuleerd wordt door de aanwezigheid van verhoogde concentratie van NADH (Bosin, 1978). Bij alcoholisten is de excretie van 5-HTOL dan ook sterk toegenomen, ten nadele van de excretie van 5-HIAA (104).

De normale urine uitscheiding van 5-HIAA bedraagt 2 - 10 mg per 24 uur, terwijl 50 - 100 μ g (= 1 procent van het totaal aanwezige serotonine in het menselijk lichaam, geschat op 10 mg) ongemetaboliseerd in de urine uitgescheiden wordt (104, 285). Vijf tot twintig procent wordt geconjugeerd uitgescheiden als sulfaat of glucuronide (47, 104). Via acetylatie tot N-acetylserotonine wordt serotonine geconjugeerd tot melatonine. Tevens kan uit serotonine bufotenine (in long, bijnier en nier) en kynureamine gevormd wor-

den. Tenslotte kan serotonine geoxydeerd worden door ceruloplasmine en cytochromoxydase.

1.4.4. Bepalingsmethoden en distributie van serotonine in lichaamsweefsels en -vloeistoffen

In principe wordt de kwantitatieve serotonine bepaling uitgevoerd met behulp van twee methodes: de bio-assay en de chemische assay (voor overzicht: zie 251, 375). In de eerste bio-assay werd gebruik gemaakt van contracties van de ratte-uterus (118). Nadien zijn strips van ratte-colon, het geïsoleerde ileum van het Guinees biggetje (141), de fundus van de ratte-maag (377) en het hart van de cavia gebruikt. De bio-assay is doorgaans zeer gevoelig (tot concentraties $< 0,5$ ng), maar kan worden gestoord door biologische variaties en inferentie met andere stoffen (375).

De serotonine bepaling met behulp van scheidingsmethoden (spectrofotofluorometrie) werd voor het eerst geïntroduceerd door Udenfriend in 1955 en is nadien verbeterd (285). Deze methode is weliswaar minder gevoelig (tot $0,03 \mu\text{g/ml}$, (83)) doch is wat betreft specificiteit en reproduceerbaarheid superieur (251). In 1976 werd een radio-immuno-assay voor serotonine ontwikkeld, gebruikmakend van konijne-anti-serotonine antistoffen (214). Recent zijn scheidings technieken met behulp van hoge-druk-vloeistof-chromotografie (HPLC) ontwikkeld met een detectiegrens van 5 pg serotonine (13).

Reeds in de vijftiger jaren werd onderkend dat de bepaling van serotonine in lichaamsvloeistoffen in hoge mate afhankelijk is van het serotonine aanwezig in trombocyten. Robertson en Andrews (325) bepaalden bij vijf patiënten met carcinoïd syndroom plasmaserotonine en vonden een duidelijk lagere serotonine spiegel bij één patiënt met een trombopenie. Nadien bleek inderdaad dat slechts een fractie (ongeveer één procent) van het lichaams-serotonine in plasma aantoonbaar is (83, 214). Behalve in bloed en serum komt serotonine voor in de volgende lichaamsvloeistoffen: amnionvocht ($0,38$ mg/ml) semen ($1,5$ mg/ml), de liquor cerebrospinalis ($0,001$ mg/ml), de synovia vloeistof ($0,5$ mg/ml); verder in kleine hoeveelheden in het speeksel, pleura- en pericardvocht, maagsap, traanvocht en oogkamervocht. De concentraties van serotonine in de lichaamsvloeistoffen bij de mens zijn weergegeven in tabel 1.2.

Opvallend is de grote spreiding in de opgegeven getallen, waarschijnlijk veroorzaakt door methodische verschillen bij afname en bepaling. Tevens is gebleken dat het serotonine gehalte in trombocyten en serum beïnvloed wordt door een aantal factoren. Het serotonine gehalte van bloedplaatjes is onder andere verlaagd bij depressie (32), bij gebruik van trycycliche anti-de-

pressiva (158), bij patiënten met levercirrhose zonder trombopenie (10), bij individuen ouder dan vijftig jaar en bij post-operatieve patiënten (345). Verder is het serotonine gehalte in trombocyten van patiënten met essentiële hypertensie verlaagd (32).

Kellum et al. (214) toonden aan dat na een standaard testmaaltijd het circulerende serotonine bijna verdubbelde, daarmee waarschijnlijk een fysiolo-

Tabel 1.2. Concentraties van serotonine bij de mens

Orgaan	Serotonine concentratie	Bepalingsmethode	Referentiebron
bloed ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0,19-0,9	bioassay	117,118,377
	0,06-0,19	spectrofluorometrie	118
	0,03-0,44	RIA	214
	0,01-0,5	HPLC	13
serum ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0,07-1,0	bioassay	117, 118
	0,15-0,40	spectrofluorometrie	118
	0,015-0,018	RIA	214
trombocyten ($\mu\text{g}/10^9$ cellen)	0,2-1,3	bioassay	117, 240
	0,12-0,75	spectrofluorometrie	122, 157
hersenen			
(μg/gr weefsel)			
cortex	0,01-0,80	bioassay	117
hypothalamus	0,29-1,53	spectrofluorometrie	118
basale ganglia	0,05-1,02	bioassay	118
gland. pinealis	0,36-22,8	bioassay	118, 309
pons	0,52-1,03	bioassay	118, 309
darm ($\mu\text{g}/\text{g}$ weefsel)	1,0-3,7	bioassay	117, 118
placenta ($\mu\text{g}/\text{g}$ weefsel)	0,01-0,07	spectrofluorometrie	118
uterus ($\mu\text{g}/\text{g}$ weefsel)	0,001-0,04	spectrofluorometrie	118
milt ($\mu\text{g}/\text{g}$ weefsel)	1,84-3,05	spectrofluorometrie	118
huid ($\mu\text{g}/\text{g}$ weefsel)	0,01-0,03	bioassay	118

gische rol van serotonine in de spijsvertering aangevend. Een relatie tussen serotonine en het ontstaan van cerebrale vasospasmen bij migraine is gelegd door de waarneming dat de vrije serotonine spiegel met zestig procent daalde tijdens een aanval van migraine (15, 228).

1.5. Fysiologische effecten van serotonine

Het is vrijwel onmogelijk een duidelijk overzicht te geven van de vele effecten die serotonine heeft op cellen van orgaansystemen. Het heeft geen effect of een stimulerend effect of een remmend effect onder andere afhankelijk van speciës, individu, dosering, toedieningsvorm, innervatiepatroon, rusttonus en ontwikkeling van tachyphylaxie (104).

Getracht zal worden aan de hand van een indeling volgens orgaan of orgaanstelsel de belangrijkste fysiologische effecten van serotonine te beschrijven.

1.5.1. Effecten op het vaatstelsel

Over de effecten van serotonine op bloeddruk en hartfrequentie bij het intacte diermodel wordt uitgebreid ingegaan in hoofdstuk 2. In dit hoofdstuk zullen de effecten op geïsoleerde vaten en het hart behandeld worden.

Om meer inzicht te krijgen in de mechanismen waarop serotonine zijn vasculaire effecten te weeg brengt zijn vele studies met geïsoleerde vaatsegmenten of vaatstrips gedaan, nadat dit model door Furchgott in 1953 geïntroduceerd was. Tabel 1.3. geeft een samenvatting van een aantal experimenten met vaatsegmenten, vaatstrips of geperfundeerde vaatgebieden in verschillende modellen (voor uitgebreide overzichten zie: 104, 117, 284-286, 382, 400).

Opmerkelijk is dat bij nadere beschouwing bleek dat een van de meest frequent gebruikte vaatstrips, te weten de oorarterie van het konijn, meer α -receptoren dan serotonine receptoren bevatte (21, 283).

1.5.1.1. overzicht

Coronairarteriën:

Uit de vele experimenten met strips van coronairvaten van hond, mens en rat blijkt serotonine een potente vasoconstrictor te zijn. De respons van het vat kan worden versterkt door koude, anoxie en toevoegen van tromboxane-

A₂ en het "strippen" van het bekleedend endotheel (71, 72, 90, 263, 392, 393). Daarmede in overeenstemming zijn de waarnemingen dat intact endotheel de respons op serotonine vermindert (69, 71, 72, 73, 81, 138, 139). Mogelijk kan de vasodilatatie en toename van coronaire flow zoals beschreven in de *in vivo* experimenten met behulp van het closed-chest-model door een Endothelium-Derived-Relaxant-Factor (EDRF) verklaard kunnen worden (69). Ook recent is een 5-HT receptor in de coronairarteriën beschreven, die vasodilatatie mediëert. Deze receptor is noch van het 5-HT₁, noch van het 5-HT₂ type (213).

Cerebrale arteriën:

De effecten van serotonine op de cerebrale arteriën zijn wisselend en vooral afhankelijk van vaatbed, vaattonus en vaatkaliber (58, 109, 110). De intracranieële vaten reageren voornamelijk met vasoconstrictie en de extracranieële met vasodilatatie. Vooral de groep van Edvinsson en Hardebo (109) heeft met behulp van directe visualisatie van leptomeningeale vaten de dualistische actie van serotonine kunnen definiëren. Bij het ontstaan van vasculaire hoofdpijn (migraine) en cerebrovasculaire accidenten wordt aan serotonine een rol toegedicht (15, 228, 336, 376).

Tabel 1.3 Vasculaire effecten van serotonine

Vaatbed	Vasoconstrictie	Vasodilatatie
Arteriën		
hart	+	+
hersenen	+	+
longen	++	-
nieren	++	-
darm	+	±
navelstreng	++	-
extremiteiten	+	±
Aorta	+	-
Venen	++	±
Capillairen	toegenomen permeabiliteit	
-	= afwezig	+ = sterk
±	= matig	++ = zeer sterk

Pulmonale arteriën:

In alle gebruikte modellen blijken pulmonaal arteriën en venen zeer gevoelig voor serotonine te zijn. De vasoconstrictie van vooral het arteriele deel van de longcirculatie kan versterkt worden door toevoeging of release van tromboxane-A₂ (245). Het vrijkomen van serotonine en tromboxane-A₂ uit trombocytengregaten in de long zoals bij gramnegatieve sepsis, longembolie of na gebruik van een extracorporeel circuit zou een verklaring kunnen zijn voor het optreden van pulmonale hypertensie bij deze ziektebeelden (64, 346, 380, 381).

Nierarteriën:

Deze zijn uitgebreid onderzocht bij de hond en de rat. In het algemeen wordt een duidelijke vasoconstrictie gezien na perfusie met serotonine. De nierarteriën van de spontaan hypertensieve rat tonen een toegenomen respons op serotonine. Bovendien blijft de spontaan hypertensieve rat langduriger gevoelig voor serotonine toediening (minder tachyphylaxie)(74-76).

Hollander (188) mat de renale doorbloeding bij twintig proefpersonen en vond na intramusculaire injectie met serotonine een duidelijke afname als teken van renale vasoconstrictie.

Splanchnicus arteriën en extremiteit arteriën:

Alle geïsoleerde mesenteriaalvaten reageerden met vasoconstrictie na toediening van serotonine aan het medium. De arteriële dilatatie die *in vivo* optreedt na release van serotonine door fysiologische stimuli zoals een daling van de pH in het lumen van het duodenum, intraluminale rek en vagale prikkeling, wordt in de *in vitro* experimenten blijkbaar gemaskeerd door de overheersende vasoconstrictie in de grotere vaten (386, 388). Eenzelfde opmerking kan geplaatst worden bij de effecten van serotonine op de perifere vaten. De onderzochte arteriële strips hebben een grote diameter en reageren met vasoconstrictie. De daling van de vaatweerstand na infusie van serotonine in de geperfundeerde extremiteit is de resultante van een belangrijke vasodilatatie in de arteriolen, en een vasoconstrictie in de grotere vaten (114, 266). Op niveau van microcirculatie blijkt bij de rat de capillaire permeabiliteit onder invloed van serotonine sterk toe te nemen. Of dit berust op verandering in filtratiedruk door venoconstrictie distaal van het capillaire bed, (170) of door veranderingen in de "large pores" van het endotheel is niet geheel duidelijk (324).

Reeds vroege klinische waarnemingen bevestigden het ontstaan van lokaal oedeem rond de plaats van een subcutane serotonine injectie, veertig tot zestig minuten na injectie (284, 285). Dit tijdsverloop maakt het niet aannemelijk dat het oedeem door release van histamine ontstaat (170).

Venen:

Van de venen zijn met name strips van de humane vena saphena magna onderzocht. Serotonine geeft een aanzienlijke vasoconstrictie. Dat de vasoconstrictie mede veroorzaakt wordt door stimulatie van α -adrenerge receptoren is niet uitgesloten (20, 22, 82, 195, 247).

Uit reeds eerder aangehaalde klinische waarnemingen is het bekend dat serotonine infusie bij de mens ernstige venospasmen, pijn en thrombose kan veroorzaken (188).

Uit tabel 1.3. en de bovenstaande bespreking moge blijken dat serotonine zowel vasoconstrictie als vasodilatatie kan geven. De mechanismen waarop dit kan geschieden worden hieronder beschreven.

1.5.1.2. Mechanismen

1.5.1.2.1. Vasoconstrictie

De vasoconstrictieve effecten van serotonine kunnen verklaard worden door:

- 1) Activatie van serotonerge receptoren
- 2) Activatie van α_1 -adrenerge receptoren, direct of indirect
- 3) Amplificatie
- 4) Calcium entry

Activatie van serotonerge receptoren:

Uit talrijke studies met behulp van geïsoleerde vaten zijn voldoende aanwijzingen verkregen dat de contractie van de gladde spiercel volgend op serotonine toediening gemedieerd wordt door een serotonine receptor. De contracties kunnen competitief geantagoneerd worden met zowel de "klassieke" serotonine antagonisten (methysergide, LSD, cyproheptadine) als met meer recent ontwikkelde serotonine antagonisten zoals ketanserin; en niet of niet-competitief met α - of β -adrenerge antagonisten (51, 173, 273, 396). De affiniteit van de serotonine antagonisten voor de 5-HT₂ receptor en

de potentie om de door serotonine geïnduceerde contractie te remmen zijn goed aan elkaar gecorreleerd (70, 234, 393-396, 399). Deze correlatie tussen effect en bindingsaffiniteit voor een receptor kan als indirect bewijs beschouwd worden dat, althans in bepaalde speciës en vaatbedden, de contractie door serotonine verloopt via activatie van een 5-HT₂ receptor.

De gevoeligheid voor serotonine blijkt uiteen te lopen en is verschillend per speciës en vaatgebied. De cerebrale en coronairarteriën van mens, hond en rat en de kleinere huidvenen van de mens zijn gevoeliger voor serotonine dan de arteriae splanchnicae en de vena saphena van mens en hond. (21, 58, 71, 72, 110, 370, 385, 390, 393, 394, 396, 398).

Activatie van α_1 -adrenerge-receptoren:

Bij experimenten in een aantal vaatbedden bleek dat de door serotonine geïnduceerde contractie competitief te remmen was met α -adrenerge antagonisten zoals phentolamine en prazosine en slechts zwak of niet competitief met de serotonine antagonisten methysergide, cyproheptadine, pizotifen en ketanserin (21, 22, 38, 58, 66, 82, 394). Bovenstaande waarnemingen werden gedaan bij preparaten van perifere venen van het konijn, handvenen van mens, splanchnicusvenen en coronairarteriën van de hond. Bij de vena saphena van de hond kon een bifasische dose-pressor-responscurve van serotonine worden geconstrueerd: lage dosis serotonine (10^{-5} M) activatie van serotonerge receptoren; hogere dosis (10^{-3} M) activatie van α_1 adrenerge receptoren (195).

Ook in het model van de gepende rat blijkt de vasopressor respons op serotonine competitief door phentolamine (maar niet door prazosine en yohimbine) geremd te kunnen worden. Er kon bovendien een goede correlatie worden aangetoond tussen het hypotensieve effect van een aantal serotonine antagonisten en de affiniteit voor binding aan de α_1 - adrenerge receptor (208). Het is dus mogelijk dat in bepaalde vaatgebieden of speciës de vasculaire respons op serotonine niet alleen gemedieerd wordt door serotonerge receptoren, maar ook door receptoren die grote gelijkenis met α -adrenerge receptoren vertonen.

Ook via een indirecte weg kan serotonine tot activatie van α -adrenerge receptoren leiden. Serotonine wordt, evenals noradrenaline, opgenomen in de adrenerge zenuwuiteinden via twee mechanismen: neurale opname (opname 1) en extraneurale opname (opname-2) (210, 354). Remming van deze opname verhoogt en verlengt de respons op serotonine bij de geïsoleerde vena saphena van de hond (84, 195).

Gebruikmakend van ³H-noradrenaline vonden Curro et al. (84) dat opname van serotonine via beide mechanismen gepaard gaat met een ver-

plaatsing en verdringing van noradrenaline uit de zenuwuiteinden. Hierdoor kan serotonine indirect de α_1 -adrenoreceptor activeren (403). Ook voor intracranïële arteriën van de geit (259), het geïsoleerde konijnhart en de geïsoleerde arteria pulmonalis van het konijn werden dergelijke mechanismen beschreven. De verdringing van noradrenaline door opname van serotonine (vooral opname 1) zou in geïsoleerde hondvaten vooral bij hogere concentraties serotonine gezien worden (246, 247). De release van noradrenaline gebeurt waarschijnlijk niet via een op tyramine lijkend, maar via een calcium afhankelijk proces (132, 206, 207, 259).

Serotonine wordt evenals noradrenaline gemetaboliseerd door MAO. Op theoretische gronden zou competitie tussen serotonine en noradrenaline voor MAO ertoe kunnen leiden dat bij bezetting door serotonine meer noradrenaline ongemetaboliseerd blijft, resulterend in een verhoogde activatie van noradrenerge receptoren. Gebruikmakend van geperfundeerde vaten werd, na voorbehandeling met MAO-remmers, vasoconstrictie volgend op serotonine versterkt, tenzij tegelijk noradrenaline toegevoegd werd (422). Deze experimenten geven steun aan de hypothese dat inderdaad een competitie bestaat tussen de MAO substraten serotonine en noradrenaline.

Amplificatie:

Afgezien van de hierboven beschreven effecten blijkt serotonine de vasoconstrictie geïnduceerd door lage doses van andere vasopressoren te kunnen versterken: het zogenaamde amplificerend effect (198, 342, 390, 396). Voor vele vaatbedden is dit mechanisme met noradrenaline beschreven zoals de oorarterie van de rat, de geïsoleerde konijneaorta, de geperfundeerde arteria femoralis van de hond, de arteria mesenterica superior van de rat, de staartarterie van de rat en de vene saphena van de hond (21, 58, 84, 99, 129, 130, 283, 393-395).

Behalve voor noradrenaline is amplificatie ook beschreven voor tromboxane- A_2 prostaglandine (90, 245, 393), fibrinogeen afbraakprodukten (130) angiotensine II (395-397) histamine en vasopressine (198). In concentraties waarbij de pressor respons op serotonine geremd wordt ($10^{-7}M$), doch niet de pressor acties van verschillende andere agonisten, remt ketanserin dit amplificatiepatroon in de geïsoleerde arteria femoralis (396-399). Hieruit zou men kunnen afleiden dat bij de amplificatie van serotonine voor andere vasopressoren de perifere 5-HT₂ receptor betrokken is.

Calcium entry:

De contractie van de gladde spiercel wordt mogelijk gemaakt door verhoging van het intracellulaire calcium, wat bereikt wordt door influx van extracellulair calcium via de calcium-entry-channels, of door mobilisatie van intracellulaire calcium "stores"

In de geïsoleerde pulmonale arterie en cerebrale arterie van het konijn wordt de vasoconstrictie door serotonine (en niet door kalium) geremd door calcium-blockers (259). Lidoflazine, een calcium-entry-blocker remt de door serotonine, noradrenaline, koude en anoxie geïnduceerde contracties van de geïsoleerde coronairarterie van de hond en tevens de amplificatie respons (87, 91, 392-395). Deze experimenten suggereren dat een deel van de door de serotonine geamplificeerde contracties lopen via het mechanisme van de influx van calcium, waarschijnlijk door instroming vanuit het extracellulaire depot (391).

1.5.1.2.2. Vasodilatatie

Het vasodilaterend effect van serotonine is vooral waargenomen in het intacte organisme, speciaal bij vaten met hoge tonus (171, 374). Vasodilatatie door serotonine kan veroorzaakt worden door:

- 1) Inhibitie van adrenerge neuronen
- 2) Activatie van endotheelfactoren
- 3) Activatie van een dilaterende serotonerge receptor
- 4) Activatie van een β -adrenerge receptor
- 5) Activatie van prostacyclinesynthese
- 6) Activatie van inhiberende autonome neuronen (m.n. in de tractus digestivus)

Pre-junctionele inhibitie op adrenerge neuronen:

McGrath (246) bestudeerde strips van vena saphena en arteria tibialis van de hond in -door elektrische impulsen- gecontraheerde fase. Tegelijkertijd werd release van getritieerd noradrenaline gemeten. De gestimuleerde strips werden door 5-HT gerelaxeerd, wat gepaard ging met een afname van de noradrenaline release. Deze remmende werking werd niet beïnvloed door toevoeging van de uptakeremmer cocaïne, de β -blokker propranolol en de α -blokker fentolamine (246, 247). Uit deze waarneming werd afgeleid dat serotonine in lage concentraties in staat is om de release van noradrenaline te remmen. Ook voor de partiële serotonine agonist methysergide is een

prejunctionele inhibitie van noradrenaline release beschreven (22, 410). Meer bewijs voor het bestaan van een prejunctionele 5-HT receptor wordt ontleend aan studies, gedaan bij geïsoleerde honde- en konijngeharten. De inhiberende effecten van serotonine op hartfrequentie en bloeddrukstijging na elektrische stimulatie van de nervus cardiacus werden niet beïnvloed door toevoeging van een β -blokker of een re-uptake remmer. De inhibitie door serotonine werd versterkt na tyramine en geremd door cyproheptadine (57, 132, 260). Eveneens is presynaptische inhibitie van neurotransmitter release aangetoond in neuronen van de kat en in het geïsoleerde cervicale ganglion van het konijn (107).

Endotheel gerelateerde factoren:

Het intacte endotheel is in staat de door verschillende farmaca geïnduceerde contractie van gladde spiercellen te verminderen, of zelfs om te buigen tot relaxatie (69-73, 138, 139). De door 5-HT geïnduceerde contracties van geïsoleerde coronaire arteriën van de hond werden versterkt bij afwezigheid van endotheel, terwijl de door phenylephrine, kaliumchloride en prostaglandine- $F_{2\alpha}$ geïnduceerde contracties hierdoor niet beïnvloed werden (70, 71).

De gevoeligheid van geperfundeerde coronairvaten met endotheel is minder dan zonder endotheel en reeds tot contractie gebrachte arteriestrips (door trombocyten aggregaten) dilateerden onder invloed van serotonine alleen maar in aanwezigheid van intact endotheel (71-73). Dit fenomeen schijnt vrij uniek te zijn voor de coronairarteriën; het is althans niet aangetoond in de pulmonale arteriën (245). De hiervoor beschreven serotonine gemedieerde relaxatie wordt versterkt door toevoeging van methysergide en methiopine, maar niet door ketanserin. Het is dus niet onmogelijk dat de endotheel gemedieerde relaxatie verloopt via activatie van een serotonerge receptor, mogelijk de 5-HT₁ receptor (71, 72). Voorbehandeling met indocid remt de respons niet, zodat prostacycline niet de belangrijkste mediator lijkt. Tenslotte zijn gesuggereerd als mediators voor deze dilatatie: acetylcholine, substance-P, bradykinine, platelet derived growth factor (PDGF) en EDRF (69, 80).

Activatie van β -adrenerge receptoren:

Hoewel in de literatuur aanvankelijk gesuggereerd werd dat de vasodilatatie door serotonine gemedieerd werd via vasculaire β -receptoren (283) en de constrictie van de arteria pialis van de kat geremd kan worden met proprano-

lol (109, 110), hebben latere studies deze theoriën niet kunnen bevestigen (71, 260, 374).

Prostacycline synthese:

In cultures van gladde spiercellen van de aorta is de stimulerende invloed van serotonine op prostacycline aangetoond. Van plaatjes afkomstige groeifactor (PDGF) versnelde de synthese (81).

Het calciumion is onmisbaar bij dit proces. Blokkade van de 5-HT₂-receptor doet de prostacycline productie afnemen (81).

De conclusie lijkt gerechtvaardigd dat serotonine, via activatie van de 5-HT₂-receptor, de gladde spiercel aanzet tot synthese van het vasodilerende prostacycline. Dit proces is waarschijnlijk calcium afhankelijk.

1.5.1.2.3. Trombocyten en vaattonus

De vasoactieve werking van serotonine wordt tenslotte mede bepaald door een aantal fysiologische en pathofysiologische processen die zich in en aan de vaatwand afspelen.

Trombocytenaggregatie:

Serotonine wordt via een actief mechanisme opgenomen in de trombocyt. *In vitro* blootstelling van humane trombocyten aan serotonine resulteert in een verandering van vorm (discoïd naar sferisch) en een zwakke irreversibele trombocytenaggregatie (44, 157, 158). Katte-, varkens- en schapetrombocyten reageren met een irreversibele plaatjesaggregatie gevolgd door een release van vaso-actieve producten waaronder prostaglandines, adenosine nucleotiden en serotonine (92). Serotonine versterkt de plaatjesaggregatie geïnduceerd door ADP, collageen, adrenaline en noradrenaline. Als de plaatjes eerst gesensibiliseerd worden met noradrenaline, veroorzaakt serotonine zelfs een irreversibele aggregatie (92). Geïsoleerde bloedvatsegmenten die worden blootgesteld aan gewassen trombocyten tonen een sterke contractie (89, 398). Deze plaatjes gemedieerde contractie kan worden verklaard uit de vrijzetting van serotonine, tromboxane-A₂ en prostaglandine-F₂ uit geactiveerde trombocyten (89, 90, 245). Zowel de plaatjesaggregatie als de daarop volgende pressor respons kunnen worden geremd met serotonerge antagonisten als cyproheptadine, methysergide en ook ketanserin (245, 386, 287).

Thans lijkt de reeds door Janeway (1918) gelegde relatie tussen haemostase en vasoconstrictie bevestigd te worden door de interactie tussen trombocyten en serotonine enerzijds en de effecten op de vaatwand van trombocytenaggregaten en serotonine release anderzijds. Inderdaad is een relatie gelegd tussen een groot aantal cardiovasculaire ziekten en plaatjesaggregatie (voor overzicht zie : 92): myocardinfarct, cerebrovasculaire accidenten inclusief subarachnoïdale bloedingen, Raynaud fenomeen, pre-eclampsie, hypertensie bij gebruik van extracorporele circulatie en essentiële hypertensie.

Vaattonus en kaliber:

Een belangrijk deel van de bifasische werking van serotonine werd reeds in de vijftiger jaren toegeschreven aan de eigenschap van de amine om vaten met hoge tonus te dilateren en vaten met lage tonus te contraheren (284). De arteriae piales van de genarcotiseerde kat konden met behulp van televisievergroting in beeld gebracht worden. Werden de vaten tot dilatatie gebracht dan gaf serotonine constrictie, werden de vaten op hogere tonus gebracht dan gaf serotonine vasodilatatie (109).

Ook is veel gebruik gemaakt van het geperfundeerde diermodel omdat de neurogene tonus van het systeem door ganglionblokkade of elektrostimulatie beïnvloed kon worden. De conclusies zijn eensluidend: vaten met een hoge tonus (arteriolen) reageren op serotonine met vasodilatatie, terwijl vaten met een lagere tonus (grote arteriën en venen) met vasoconstrictie reageren (1, 114, 170, 171, 284).

Injectie van serotonine in de arteria carotis externa bij honden gaf vasodilatatie, echter na vagotomie werd de vasoconstrictieve werking ontmaskerd (265). In het algemeen zal een vaatbed, bestaande uit grote en kleinere vaten, een respons tonen die bepaald wordt door de balans tussen vasoconstrictie en vasodilatatie.

1.5.2. Effecten op het hart

Serotonine toegevoegd aan perfusievloeistof in de Langendorff opstelling, heeft over het algemeen positief chronotroop en inotrop effect (voor overzichten zie: 104, 117) (tabel 1.4.).

De hartfrequentie neemt onder invloed van serotonine (10^{-5} - 10^{-8} M) toe met twintig tot honderd procent (57, 132, 133, 213). De invloed van serotonine op de sinusknoop kan gemedieerd worden via een serotonerge receptor, die aan geen van de karakteristieken van de D, M, 5-HT₁ of 5-HT₂ recep-

toren voldoet. Uitgebreid is studie gemaakt van de effecten van serotonine op de sympatische activiteit in het geïsoleerde hart. Serotonine stimuleert de transmitterrelease (^3H noradrenaline) uit de sympatische zenuwen door een calcium-afhankelijke depolarisatie van de membraan (133). Mogelijk is de serotonerge invloed bij het ontstaan van digitalis-geïnduceerde aritmieën door dit indirecte sympaticomimetische effect verklaard (178, 179). Serotonine antagonisten als methysergide, cyproheptadine en ketanserin beschermen geïsoleerde harten tegen ritmestoornissen na myocard ischemie (178, 179, 367).

Serotonine heeft een positief inotroop effect zoals reeds in 1960 werd vastgesteld aan de hand van geïsoleerde atria en ventrikels (372). Dit inotrope effect is ook in recentere studies waargenomen bij papillair spieren en in intacte honden (52, 313). Zowel de dp/dt van rechter als linker ventrikel verdubbelden na intraveneuze infusie van 50 tot 100 mg serotonine/kg/min. (52).

Het inotrope effect van serotonine kan verklaard worden door activatie van serotonerge cardiale receptoren, of door indirecte sympaticomimetische effecten. Bij genarcotiseerde honden is ketanserin in staat de door serotonine geïnduceerde verhoging van cardiac output te niet te doen (52). Bij het geïsoleerde rattehart heeft ketanserin geen effect op de cardiac output (367). In hoeverre serotonine een belangrijke fysiologische rol speelt bij het in stand houden van de cardiac performance is onduidelijk. Echter tryptofaan en serotonine deficiëntie kunnen leiden tot een ernstige cardiomyopathie. Het tegenovergestelde, een excess van serotonine (voedsel, carcinoïdsyndroom) kan leiden tot het zogenaamde carcinoïd-hart met endocardiale fibrose (163).

1.5.3. Effecten op het maagdarmstelsel

Serotonine verhoogt voornamelijk de motiliteit van maag, duodenum en ileum en verlaagt die van het colon (31, 378). De stimulatie van de gladde spiercellen van de darm kan via directe activatie door serotonine of indirecte stimulatie via cholinerge zenuwuiteinden in de tractus digestivus plaatsvinden (3, 56). Opmerkelijk is de stijging in de serotonine concentratie in de afvoerende darmvenen na mechanische stimulatie, elektrische stimulatie en chemische stimulatie door middel van cholecystokinine, secretine, hypertoon glucose, acidificatie en onder invloed van cholera toxine. De daarop volgende intestinale vasodilatatie kan geremd worden met serotonine antagonisten (36). Zeer waarschijnlijk speelt serotonine een rol in de postprandiale hyperaemie van de darm, al dan niet door directe effecten (388) of indirecte effecten via het vasoactieve polypeptide (VIP) en release van acetylcholine

Tabel 1.4 Effecten van serotonine op orgaanstelsel

Orgaanstelsel	Effect
hart	positieve inotropie en chronotropie
maagdarmstelsel	stimuleert motiliteit en secretie
ademhalingsstelsel	stimuleert ademhaling, veroorzaakt bronchoconstrictie
urogenitale stelsel	vermindert GFR, veroorzaakt uteruscontractie
centrale zenuwstelsel	is betrokken bij gedrag, dag- nachtritme en thermoregulatie
hormonen	stimuleert afgifte PRL, GH, ACTH, aldosteron remt afgifte FSH en TSH
bewegingsapparaat	stimuleert collageenvorming
trömbocyten	bevordert aggregatie

(voor overzicht zie 7,8). Mogelijk is serotonine betrokken bij het ontstaan van de diarree bij cholera en bij het carcinoïdsyndroom. Therapie bij het laatstgenoemde syndroom met zowel klassieke serotonine antagonisten als ketanserin geven steun aan deze theorie (8).

1.5.4. Effecten van serotonine op het ademhalingsstelsel

Intraveneuze injectie van serotonine geeft wisselende effecten, variërend van apneu tot tachypneu onder andere afhankelijk van dierspecies (voor overzicht zie: 358). De stimulerende werking van serotonine op de respiratie wordt teniet gedaan door vagotomie. Hiermee wordt een reflex via chemische cardiopulmonale receptoren gesuggereerd. Zowel bij geïsoleerde bronchi als in het geventileerde model treedt na toediening van serotonine toename van de luchtwegweerstand op door bronchoconstrictie (218).

1.5.5. Effecten van serotonine op het urogenitale stelsel

Serotonine heeft ongunstige effecten op de nierfunctie, zoals vermindering van water- en zoutexcretie, maar of dit directe effecten zijn op niertubuli dan wel secundair aan veranderingen in bloeddorstrooming of perfusiedruk

is onduidelijk (2, 4, 117). Aanvankelijk werd aangenomen dat serotonine het antidiuretisch hormoon kon vrijmaken, doch dit werd later weerlegd. Met name in lage doseringen (lager dan 5 mg/kg intraveneus bij honden) vermindert serotonine de urineflow zonder verandering in glomerulaire filtratiesnelheid (GFR). Bij hogere doseringen (tot 25 mg/kg) wordt de verandering in urineflow gerelateerd aan de daling van de GFR. Tegelijkertijd optredende natrium retentie wordt mogelijk gemedieerd door gestimuleerde aldosteronsecretie (271, 328). Waarschijnlijk is serotonine geen belangrijke regulator van de nierfunctie. Hoewel hoge doses serotonine bij ratten een acute nierinsufficiëntie kan veroorzaken blijken in het humane model geen studies voorhanden die deze hypothese steunen. De acute nierinsufficiëntie ten gevolge van immuun complex afzettingen tegen de glomerulus basaalmembraan gaat gepaard met destructie van het mesangium. Daarbij treedt verhoogde doorlaatbaarheid op, gemedieerd door een aantal vaso-actieve stoffen zoals histamine en serotonine. Hoewel in sommige studies de voorbehandeling met cyproheptadine een vermindering van nierfunctieverlies en proteïnurie gaf is de rol van serotonine bij het ontstaan van immuuncomplex nephritis geenszins bevestigd (voor overzicht zie: 4).

Serotonine geeft constrictie en toename van de peristaltiek van de ureter (4). Eveneens wordt de blaastonus verhoogd, via directe of indirecte effecten op de blaaspieren (169).

De uterus is een van ouds onderzocht effectororgaan en de door serotonine geïnduceerde contractie is gebruikt als bio-assay (117). Serotonine, subcutaan geïnjecteerd bij zwangere muizen, heeft ernstige teratogene effecten (118, 305).

1.5.6 Effecten op hormonen

Nadat door Page hoge concentraties serotonine in de hersenen waren aangetoond groeide de interesse naar serotonine als mogelijke regulator van hormonale processen; met name is onderzoek verricht naar de effecten van serotonine op hypofyse en bijnier.

Hypofyse:

Serotonine verhoogt de secretie van prolactine, groeihormoon en ACTH, de laatste waarschijnlijk via corticotrophin releasing factor uit de hypothalamus (189, 204). De secretie van LH, FSH en TSH daarentegen wordt geremd door serotonine. Het is waarschijnlijk dat een deel van het dag- en nachtritme van vele hormonen door serotonerge innervatie via de glandula pinea-

lis beïnvloed wordt (309). Bij het met hypofyse adenoom gepaard gaande syndroom van Cushing is cyproheptadine met succes toegepast, wat als steun voor de serotonerge beïnvloeding van de ACTH release gezien wordt (189, 220).

Bijnier:

Reid en Rand (320) infundeerden serotonine in de arteria mesenterica superior en stelden een verhoogde afgifte van adrenaline uit het bijniermerg vast. Nadien is deze adrenaline release als mogelijke oorzaak voor de pressor respons op serotonine geïdentificeerd (268). Of serotonine een rol speelt bij de fysiologische regulatie van het bijniermerg is onbekend (104).

Uitgebreidere studies zijn verschenen over het stimulerend effect van serotonine op de bijnierschors (37, 369). Gebruikmakend van geïsoleerde zona glomerulosacellen van mensen en ratten is aangetoond dat serotonine een krachtige stimulator van de aldosteronsecretie is. Recent is ook bij de intacte mens een aldosteronstimulatie na serotonine infusie vastgesteld die niet gerelateerd bleek aan renine- of bloeddrukveranderingen (257). De *in vitro* responses op serotonine kunnen geblokkeerd worden met serotonine antagonisten zoals cyproheptadine, echter ook met calcium entry blockers. Op grond van aldosteron verlagende effecten is cyproheptadine met succes toegepast bij idiopathisch hyperaldosteronisme (166).

1.5.7. Effecten van serotonine op het centrale zenuwstelsel

Een uitgebreide bespreking van de effecten van serotonine op het centrale zenuwstelsel valt buiten het kader van dit proefschrift. Serotonine wordt verondersteld betrokken te zijn bij de regulatie van gedrag, stemming, agressie, herinnering, pijn en slaap. (118). Vooral agitatie en depressie worden door psycho-farmacologen verklaard door stoornissen in het serotonine metabolisme in de hersenen. Eveneens lijkt serotonine betrokken bij het in stand houden van het waak-slaap ritme via fotoreceptoren in de glandula pinealis (49) en verder bij centrale thermoregulatie. Verder is gesuggereerd dat schizofrenie, hallucinaties en epilepsie gerelateerd zijn met stoornissen in de serotonine stofwisseling (voor overzicht zie: 118, 286).

1.5.8. Effecten van serotonine op het bewegingsapparaat

Serotonine bevordert de synthese en rijping van collageen en proliferatie

van endotheel en is geassocieerd met fibroblasten activatie (25, 80, 85). Hoewel hoge concentraties serotonine aangetoond zijn in de synoviavloeistof van patiënten met reumatoïde arthritis, lijkt een oorzakelijk verband tussen serotonine metabolisme en deze gewrichtsziekte niet waarschijnlijk.

Bij ratten ontstaat na langdurige serotoninetoediening myopathie; ook bij patiënten met het carcinoïdsyndroom ontstaat op de lange duur spierdegeneratie (361). Van serotonine en van methysergide, een partiële serotonine agonist, is na langdurige inname uitgebreide fibrosevorming, o.a. op hartkleppen, beschreven (163).

1.6. Samenvatting

Serotonine wordt door lever en longen dermate effectief geëlimineerd, dat de uiterst geringe hoeveelheid vrij serotonine in circulerend plasma niet in staat geacht mag worden effecten op vaatwanden of spiercellen uit te oefenen. De trombocyt beschikt over een grote opnamecapaciteit voor serotonine door middel van een actief opname-mechanisme en fungeert dan ook als transportmedium voor serotonine. Plaatjesaggregatie wordt gevolgd door release van een aantal vasoactieve stoffen, waaronder serotonine. De concentratie van serotonine ($\pm 10^{-6}$ M), die bereikt wordt door release uit de trombocyten is voldoende om op lokaal niveau vaatwandreceptoren te bezetten. Een deel van het vrijgezette serotonine wordt weer opgenomen door trombocyten of wordt door het enzym MAO in de endotheelcel gemetaboliseerd.

Samenvattend zijn de factoren die de lokale concentratie bepalen: aanmaak van serotonine door de enterochromaffiene cel in de darm, eliminatie en metabolisatie door endotheel van lever, long en perifere vaten en opname, en transport en release door trombocyten.

Serotonine heeft een bifasisch effect op vaten, d.w.z. kan zowel vasoconstrictie als vasodilatatie bewerkstelligen. Vasoconstrictie kan verklaard worden door directe en indirecte activatie van vasculaire receptoren. Serotonine activeert direct de vasculaire 5-HT₂ receptor en is ook in staat gebleken (bij bepaalde speciës) de α_1 -receptor direct te bezetten. Door verdringing en release van noradrenaline uit de zenuwuiteinden en door competitie tussen serotonine en noradrenaline voor MAO kan serotonine de noradrenalineconcentratie in de synapsspleet verhogen. Op deze wijze kan indirect activatie van de α_1 -adrenoceptor plaatsvinden. Tenslotte blijkt serotonine in staat om de effecten van verschillende vasoconstrictieve stoffen te versterken: amplificatie. Welke rol vaatwandreceptoren, calcium-instroom of endotheel

factoren bij amplificatie een rol spelen is nog onduidelijk.

De vaatverwijding door serotonine kan verklaard worden door activatie van vasodilaterende receptoren, zoals de 5-HT₁-receptor en de β_2 -adrenerge receptor, en door vermindering van de noradrenaline release op presynaptisch niveau. Het intacte endotheel blijkt een belangrijke rol te spelen bij vasodilatatie. Enerzijds wordt de vasoconstrictie na serotoninerelease door endotheel geremd, anderzijds kan het intacte endotheel relaxatie bevorderen door afgifte van een aantal mediators, zoals prostacycline, acetylcholine, bradykinine en EDRF.

Hoofdstuk 2

Serotonine; bloeddruk en hypertensie

2.1. Inleiding

Het handhaven van bloeddruk in het menselijk lichaam is noodzakelijk om de vitale organen van bloed te voorzien. Om de kritische perfusiedruk te handhaven beschikt het lichaam over een groot aantal mechanismen waarvan de belangrijkste zijn beïnvloeding van de cardiac output door middel van hartfrequentie, contractiliteit en vullingsdrukken en manipulatie van de perifere vaatweerstand door middel van sympatische innervatie. Hoewel langdurig en uitgebreid onderzoek werd verricht naar de effecten van serotonine op het cardiovasculaire apparaat (zie Hoofdstuk 1) is nog geenszins duidelijk of aan serotonine een fysiologische betekenis in de regulatie van bloeddruk kan worden toegekend.

Reeds in de vijftiger jaren werd het effect van intraveneus toegediend serotonine op de bloeddruk bij gezonde vrijwilligers en patiënten met essentiële hypertensie bestudeerd. De effecten waren gering en wisselend (188, 232, 283). Uit deze eerste waarnemingen bleek wel dat het moeilijk, zo niet ondoenlijk, was de fysiologische rol van serotonine bij het in stand houden van bloeddruk bij het intacte individu te definiëren. Derhalve werd uitgeweken naar diermodellen of naar geïsoleerde vaatsegmenten (zie Hoofdstuk 1). Nadat met behulp van immunohistochemische technieken vastgesteld was dat met name de vasomotore centra in de pons rijk serotonerg geïm-

veerd waren, richtte de belangstelling zich op de centrale serotonerge bloeddrukregulatie (61, 62). Echter ook in dit veld werden tegenstrijdige resultaten gerapporteerd, niet in de laatste plaats door de grote verschillen tussen de diverse speciës (223). Voorzichtig kon geconcludeerd worden dat vooral de bulbospinale serotonerge neuronen een interactie met het autonome zenuwstelsel aangaan. Over de centrale regulatie van bloeddruk door serotonine bij de intacte mens is nog maar zeer weinig bekend.

2.2. Perifere effecten van serotonine op bloeddruk

Nadat Rapport (314) de vasoconstrictieve eigenschappen van serotonine beschreven had, werd serotonine als één van de pressorhormonen naar voren geschoven die verantwoordelijk zou kunnen zijn voor het ontwikkelen en onderhouden van de hoge vaatweerstand bij hypertensie. Echter de effecten op bloeddruk bij mens en dier waren dermate variabel dat MacCubbin en Page voor de geobserveerde fenomenen een nieuw woord creëerden: amfibarische respons (283). Figuur 2.1 toont deze respons bij normotensieve ratten (206, 333).

Er blijken drie fasen te onderscheiden:

1. Een kort durende fase waarbij enkele seconden na de injectie zowel bloeddruk als hartfrequentie dalen. Deze respons is aangeduid als de Van Bezold-Jarisch-reflex, een ventriculaire receptorreflex waarbij drukverhoging in de ventrikels leidt tot vertraging van hartactie en daling van bloeddruk en vaatweerstand (332). Deze reflex wordt via de cervicale nervus vagus gemedieerd en is verdwenen na vagotomie, atropinisatie en laesie van de chemoreceptoren (133, 286, 333). Fozard toonde aan dat activatie van niet geklassificeerde 5-HT receptoren (M-receptoren?) in het geïsoleerde hart deze reflex in gang zet (132, 133). Selektieve 5-HT-M receptor antagonisten, doch niet ketanserin, antagoneren de reflexbradycardie (209).
2. De volgende fase is eveneens kortdurend, ongeveer tien tot twintig seconden, en geeft een pressor respons te zien met een bloeddrukstijging van 20-60 mmHg. Deze respons wordt niet beïnvloed door vagotomie, maar wel versterkt door ganglionblokkade (285, 286). De bloeddrukverhoging wordt toegeschreven aan (a) directe vasoconstrictie door serotonine, mogelijk versterkt door een positief chronotroop effect (123, 131, 286), (b) vrijmaking van adrenaline uit de bijnier (320) en (c) door een sympathicomimetisch effect met release van noradrenaline (84, 246). De pressorrespons op serotonine wordt geantagoneerd door serotonerge antagonist zoals methysergide, cyproheptadine en ketanserin (19, 184, 206) en in de gepende rat door α -adrenerge blokkade (207, 208).

3. De laatste fase bestaat uit een periode van bloeddrukdaling met 10-40 mm Hg gedurende ongeveer drie minuten. Deze respons wordt noch door vagotomie of destructie van het ganglion stellatum, noch door ganglionblokkade opgeheven. De depressorrespons op serotonine wordt verklaard door release van acetylcholine en/of histamine (284) en door stimulatie van β -receptoren. De depressor fase wordt niet geantagoneerd met 5-HT₂ antagonisten, maar wel met gemengde of meer specifieke 5-HT₁ antagonisten. Mogelijk dat de dilaterende 5-HT₁ receptor bij deze respons betrokken is (208). Andere auteurs stellen de extreme pulmonale vasoconstrictie en daardoor daling van vullingsdrukken van het hart voor de bloeddrukdaling verantwoordelijk (131, 286).

De respons op serotonine blijkt sterk afhankelijk te zijn van de dosis, toedieningsweg, speciës en rusttonus. Lage doses van 0,06 - 0,15 mg serotonine intraveneus geven bij de mens bloeddrukdaling (188, 283). Hogere do-

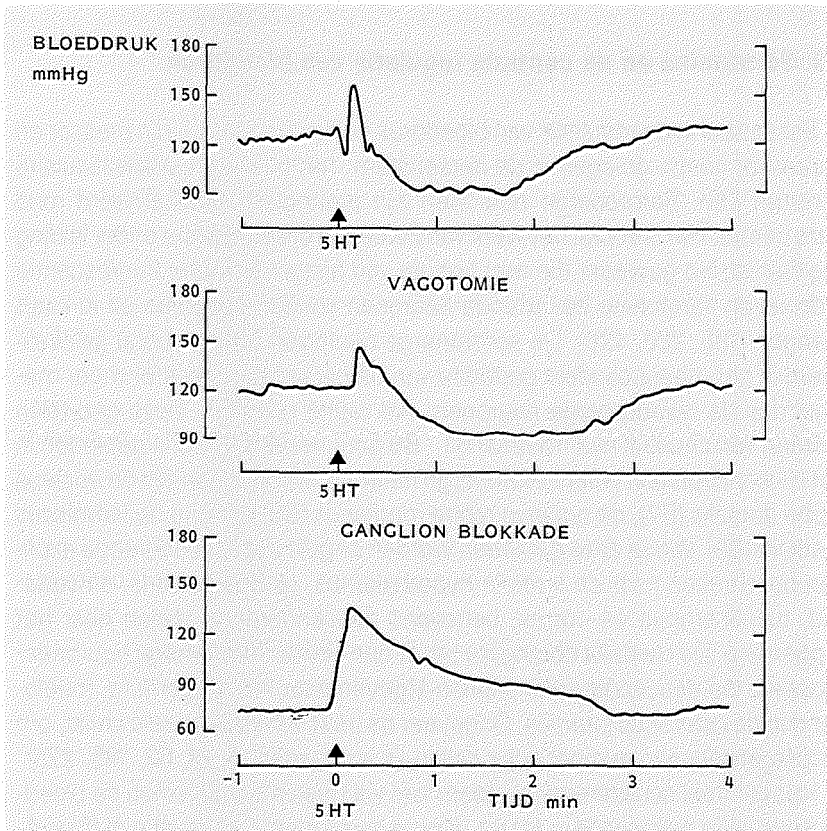


fig. 2.1. De bloeddrukrespons van een normotensieve rat na intraveneuze injectie van 2 microgram serotonine. (Salmoiraghi, 1956)

sering (boven de 2 mg i.v.) geeft bij de mens een bloeddrukstijging (188, 232, 283). De injecties gaan gepaard met een groot aantal neveneffecten waaronder tenesmi, diarree, hyperventilatie en vooral pijn, spasmen en trombosevorming in de gecanuleerde venen. Er is geen verschil in bloeddruk respons op intraveneuze serotonine tussen normotensieve en hypertensieve personen (188, 232). Bij proefdieren (voornamelijk de rat) is gebleken dat ook de wijze van toediening van belang is. Intraveneuze injectie geeft bij de rat vrijwel altijd een pressorrespons, terwijl bij subcutane of intraperitoneale injectie de depressor respons overheerst (4). Ook de snelheid van de injectie blijkt van belang; vooral langdurige infusies geven vasoconstrictie. Vele dierspeciës zijn onderzocht op cardiovasculaire effecten van serotonine. De rat, maar niet specifiek de spontaan hypertensieve rat, de hond en het konijn blijken zeer gevoelig te zijn voor intraveneuze serotonine. De kat, het Guinees biggetje, de hond en de mens lijken minder gevoelig te zijn (voor overzichtsartikelen zie 4, 116, 117).

2.3. Serotonine en de centrale regulatie van bloeddruk

Essentieel in de regulatie van bloeddruk en hartfrequentie zijn pressor en depressor centra gelegen in de hersenstam: het bulbair cardiovasculaire centrum (30). Serotonerge neuronen zijn strategisch gelokaliseerd rond deze centra. Het is vooral het werk van Zweedse onderzoekers onder leiding van Dahlström geweest die met behulp van histochemische fluorescentie technieken serotonine bevattende neuronen konden opsporen en in kaart brengen (185, 286, 426). De serotonerge neuronen blijken vooral gelokaliseerd in het meest caudale gedeelte van de hersenstam, echter meer mediaal dan de noradrenerge neuronen: het raphe complex. Deze gebieden werden van caudaal naar rostraal B1 - B9 genummerd. De drie gebieden in het mesencephalon waar serotonerge neuronen voorkomen zijn de nucleus raphe dorsalis (B7), de nucleus raphe medianus (B8) en rond de lemniscus medialis (B9). Vanuit deze gebieden worden ongekruist ascenderende axonen beschreven naar de laterale hypothalamus, globus pallidus, amygdaloïd, hippocampus en cortex, benevens descenderende banen naar het ruggemerg. De medulla oblongata bevat een viertal serotonerge neuronengroepen, die descenderende axonen afgeven naar het ruggemerg, meelappend in de columnus lateralis. Ongeveer de helft van deze vezels kruist, om de preganglionaire sympatische cellen te innervieren (6, 61, 62, 185, 223)

Het centrale serotonerge systeem kan via twee mechanismen de bloeddrukregulatie beïnvloeden: (a) via directe serotonerge innervatie of (b) indirect via beïnvloeding van de sympaticus outflow uit de hersenstam(223). Vooral bij de spontaan hypertensieve rat wordt het laatste mechanisme ver-

ondersteld. Selectieve elektrische of farmacologische interventie van directe of indirecte serotonerge innervatie is vrijwel onmogelijk (350), zodat volledige bewijsvoering niet geleverd kan worden.

Serotonine passeert nauwelijks de bloedhersensbarrière, zodat voor bestudering van centrale serotonerge effecten de volgende alternatieve wegen gekozen zijn (voor overzichtsartikelen zie: 223, 426)

1. Directe elektrische stimulatie van serotonerge neuronen.
2. Verhoging van centrale serotonine concentratie door toedienen van L-tryptofaan en 5-hydroxytryptofaan, beide precursors van serotonine, al dan niet in combinatie met MAO remmers.
3. Verlaging van centrale serotonine concentratie door remming van het enzym tryptofaan-hydroxylase met behulp van parachloorphenylalanine (PCPA).
4. Destructie van serotonerge neuronen door intracerebrale toediening van de 5-HT analogen: 5,6- en 5,7-hydroxytryptamine (DHT).
5. Directe intracerebrale of intracerebroventriculaire toediening van serotonine en/of serotonine antagonisten.

2.3.1. Directe elektrische stimulatie van mesencefale kernen

Electrische stimulatie van de raphe nucleus medialis en dorsalis bij de normotensieve en spontaan hypertensieve rat geeft een stimulus-afhankelijke stijging in bloeddruk van ongeveer 30 mmHg (223, 224, 350, 426). Deze bloeddrukstijging kan ongedaan worden gemaakt door voorbehandeling met serotonine depletie met PCPA (350), terwijl herstel van de serotonine concentratie door middel van 5-HTP de respons weer doet terugkomen (223). Eveneens is de bloeddrukstijging na elektrische stimulatie bij de rat verdwenen na laesie van de ascenderende banen en na toediening van de serotonine antagonist 2-bromo-LSD in de hypothalamus (426).

Bij de kat daarentegen werd na stimulatie een bloeddrukdaling gevonden (77), terwijl andere auteurs bij deze speciës een bloeddruk- en hartfrequentiestijging waarnamen. Deze gegevens zijn duidelijk controversieel en onder andere dierspeciës afhankelijk. De tot nu toe bekende waarnemingen bij de rat, suggereren dat elektrische stimulatie van de raphe nucleus medianus tot activatie van het ascenderende serotonerge systeem leidt, met onder andere activatie van postsynaptische 5-HT receptoren in de hypothalamus. De discrepantie tussen verschillende onderzoekers wat betreft de bloeddruk respons zou kunnen berusten op het bestaan van zowel serotonerge pressor- als depressor centra (223).

2.3.2. Verhoging van het centrale endogene serotonine gehalte

L-Tryptofaan tot 100 mg/kg intraveneus of intraventriculair toegediend aan normotensieve ratten heeft geen effect op de bloeddruk, hoewel de stof in staat is om de serotonineconcentraties in de hersenen van katten, honden en ratten tienvoudig te verhogen (40, 108, 221, 280). L-Tryptofaan intraveneus, intraperitoneaal of subcutaan toegediend aan hypertensieve ratten (223, 280, 364), katten en honden (16, 17) geeft alleen in hoge doseringen van meer dan 100 mg/kg bloeddrukdaling. Toevoeging van een MAO- of een 5-HT re-uptake remmer bij de spontaan hypertensieve rat resulteert in een verdere bloeddrukdaling (16-18, 364). Dat inderdaad verhoogde centrale release van serotonine door tryptofaan verantwoordelijk is voor de cardiovasculaire effecten bij de spontaan hypertensieve rat, wordt gesuggereerd door de observatie dat het bloeddrukverlagende effect verdwenen is na een voorbehandeling met een serotonine antagonist, na serotonine depletie met PCPA en na gelijktijdige toediening van het aminozuur valine, dat de centrale opname van tryptofaan competitief remt (18, 280, 364). Mechanismen waarmee de cardiovasculaire effecten van L-Tryptofaan verklaard kunnen worden zijn (a) presynaptische inhibitie van ascenderende en descenderende serotonerge neuronen door release van 5-HT, (b) activatie van centrale inhiberende serotonerge systemen, (c) activatie via serotonine release van perifere inhiberende serotonine receptoren en (d) daling van plasma renine activiteit (223).

Toediening van 5-HTP heeft meer uitgesproken effecten op bloeddruk dan L-Tryptofaan (280). In de rat, de kat en in mindere mate bij de hond geeft 5-HTP, 5-200 mg/kg intraveneus, intraperitoneaal of subcutaan toegediend een dosis- en tijdsafhankelijke bloeddrukdaling van ongeveer 20 mmHg (16, 18, 108, 244, 280). Voorbehandeling met MAO versterkt de hypotensieve respons op 10 mg/kg 5-HTP intraveneus bij honden (16-18, 62, 237). Ook intracerebroventriculair toegediend, 3-30 mg/kg, aan katten en honden geeft 5-HTP een duidelijke bloeddruk- en hartfrequentiedaling. De bloeddruk respons op bilaterale carotis occlusie wordt door 5-HTP sterk geremd (16, 17, 244). Studies, gebruikmakend van perifere (MK 480) of centrale (RO-4-4602) remmers van het enzym decarboxylase, suggereren dat voor het bereiken van het hypotensieve effect van 5-HTP centrale omzetting van 5-HTP in serotonine noodzakelijk is (18, 280). Een tweetal kanttekeningen kunnen daarbij gemaakt worden: het enzym decarboxylase is geen serotonine specifiek enzym en decarboxylaseremming kan ook dopaminerge en adrenerge systemen beïnvloeden en de meeste experimenten zijn uitgevoerd onder MAO remming welk enzym eveneens bij het metabolisme van noradrenaline betrokken is.

2.3.3. Centrale serotonine depletie.

Serotonine depletie wordt meestal bewerkstelligd met PCPA, een irreversibele remmer van het enzym L-tryptofaanhydroxylase. Intraperitoneaal toegediend, 40-250 mg/dag geeft PCPA bij de rat een serotonine depletie van 50-80 procent (61, 98, 423). Bij grotere zoogdieren wordt minder depletie bereikt van 10-30 procent (423). Bij de intacte normotensieve en spontaan hypertensieve rat geeft toediening van 100 - 300 mg/kg PCPA intraperitoneaal een langdurige bloeddrukstijging van 20 - 40 mmHg (98). Deze respons kan worden geblokkeerd door toediening van 5-HTP. Wel blijkt tachyfyxie te ontstaan op herhaalde injecties PCPA en blijkt de bloeddruk langzaam terug te keren naar de uitgangswaarde, ondanks vrijwel totale serotonine depletie. Tegenstrijdige resultaten werden gemeld bij spontaan hypertensieve ratten die een bloeddrukdaling vertoonden na PCPA per os (203) en bij normotensieve en hypertensieve konijnen, waarbij de bloeddruk respons op PCPA nihil is (61, 62, 423, 424). Katten en honden blijken eveneens geen bloeddruk respons op PCPA te tonen (77). Blijkbaar bestaat er een duidelijk verschil in dierspeciës voor wat betreft de bloeddruk respons op al dan niet complete serotonine depletie met PCPA. Waarom de hond, kat en konijn min of meer "resistent" zijn tegen PCPA is onbekend. Misschien omdat bij deze diersoorten de serotonine depletie door PCPA minder effectief is (slechts 10-20 procent)(423, 424).

2.3.4. Destructie van serotonerge structuren

De serotonerge neuronen of axonen kunnen worden gelaedeerd met behulp van de indolamines 5,6-dihydroxytryptamine en 5,7-dihydroxytryptamine (5,6-DHT en 5,7-DHT). Deze neurotoxische stoffen penetreren de neuronen via een opnamemechanisme. Na intraspinale of intracerebroventriculaire toediening kan het aantal functionerende serotonerge neuronen met 95% dalen (61, 276). Vijftig - 450 µg/kg 5,6- of 5,7-DHT intracerebraal toegediend bij de normotensieve of hypertensieve rat (63, 126, 276), de normotensieve kat (77, 178) en het normotensieve of hypertensieve konijn (219, 424) geeft een zeer wisselende bloeddruk respons te zien. Met name bij de experimenten met de hypertensieve dieren werd een bloeddrukverlaging gevonden, zij het sterk wisselend van grootte. Deze bloeddrukdaling die ongeveer een uur na toediening van de neurotoxine optreedt, wordt niet beïnvloed door α -adrenerge of serotonerge antagonisten (126). Voorbehandeling met 5,6-DHT kan de ontwikkeling van hypertensie bij de spontaan hypertensieve, de DOCA hypertensieve en het renaal hypertensieve konijn weliswaar vertragen, maar niet voorkomen (276, 424).

De neurogene hypertensie die ontstaat bij konijnen na sino-aortale denervatie gaat gepaard met een toename van serotonine concentratie in het medulla-pons gebied. Toediening van 5,6-DHT voorkomt het ontstaan van deze vorm van hypertensie (424). De door catecholamine injectie geïnduceerde bradycardie bij het konijn kan worden geremd door toediening 5,6- of 5,7-DHT (219, 237). Alpha-methyl-dopa, lokaal toegediend in de serotonerge kernen in de medulla oblongata van ratten, geeft een bloeddrukdaling die eveneens teniet gedaan wordt door intraventriculaire toediening van 5,7-DHT (63). Aan deze studies met behulp van destructie van serotonerge structuren worden argumenten ontleend, dat serotonerge axonen een invloed hebben op vasomotore reflexen en dat serotonerge systemen de sympaticus outflow beïnvloeden. Mogelijk dat centraal werkende middelen als alpha-methyl-dopa mede hun hypotensieve werking via bovengenoemde banen ontplooiën (63). Een aantal van de tegenstrijdige resultaten kan verklaard worden door het al dan niet genarcotiseerd zijn van de proefdieren en de niet geheel specifieke serotonerge neurotoxiciteit van 5,6- en 5,7-DHT. Na toediening van 5,6-DHT is ook de catecholamineconcentratie in pons en ruggemerg met ongeveer 30 procent verminderd.

2.3.5. Centrale toediening van serotonine en serotonine antagonisten

Omdat serotonine niet of nauwelijks de bloedhersensbarrière passeert is de stof op grote schaal intracerebroventriculair toegediend voornamelijk bij honden en ratten (223, 286, 426). Intracerebrale of intracerebroventriculaire toediening van 0,001 - 25 µg serotonine bij de rat geeft een bloeddrukstijging gedurende ongeveer dertig minuten. De grootste effecten werden gezien na injectie in de derde cerebrale ventrikel en deze zijn te remmen met curarisatie en beademing, met de serotonine antagonisten methysergide en bromo-LSD en na transsectie van het ruggemerg op niveau C1-C3 (221, 226, 227). De respons wordt niet of maar zeer gedeeltelijk geblokkeerd door hexamethonium en adrenalectomie. De door serotonine, na intracerebroventriculaire toediening, geïnduceerde pressor-respons bij de rat kan geblokkeerd worden door systemische toediening van α -adrenerge antagonisten, waaruit de conclusie getrokken wordt dat deze bloeddrukstijging, althans bij de rat, het resultaat is van een verhoogde α -adrenerge activiteit (221, 222). Opvallend is het verschil in bloeddruk respons bij de rat op serotonine intracerebraal (verhogend) en het verhogen van de centrale serotonine concentratie door middel van 5-HTP (verlagend). Blijkbaar is bij de rat de wijze van serotonine concentratieverhoging bepalend voor de bloeddruk respons. Intracerebroventriculair serotonine verspreidt zich snel over het gehele cerebrum en

laat dus geen conclusies toe over de lokalisatie van pressorcentra. Kleine hoeveelheden serotonine (20 ng) geïnjecteerd in de hypothalamus anterior van de normotensieve rat geven een duidelijke bloeddrukverhoging die te remmen is met metergoline en methysergide (350, 426). Gebaseerd op de waarnemingen bij ratten lijkt het erop dat activatie van cerebrale serotonerge receptoren de sympaticus outflow doet toenemen, hetzij via activatie, hetzij via desinhibitie.

Experimenten bij de hond en kat met 5-HT intracerebraal toegediend laten een depressor respons zien met een verlaging van de hartfrequentie. Deze respons is analoog aan die geïnduceerd door toediening van serotonine precursors in deze dierspeciës (zie boven). Waarop het verschil in respons op intracerebraal serotonine bij ratten enerzijds en honden en katten anderzijds berust is niet duidelijk.

De centrale toediening van serotonine antagonisten is beperkt geweest. Zowel bij ratten als bij honden geeft methysergide, 20 µg - 0,1 mg/kg intracerebroventriculair, bloeddrukdaling (17, 226, 350). De effecten komen overeen met de injecties van methysergide, 1-3 mg intraveneus, bij dezelfde dierspeciës. Methysergide intracerebraal remt de hartfrequentie en de door carotis occlusie induceerde hypertensie bij honden, waaruit zou kunnen blijken dat de stof op centraal niveau een reductie van de sympaticus outflow geeft (17-20).

Wij moeten dus concluderen dat er een centrale serotonerge beïnvloeding van de bloeddruk bestaat. Bij de rat lijkt centrale serotonerge activatie vooral een pressor respons te geven. Deze respons verloopt waarschijnlijk via neuronen in de hypothalamus anterior en uit zich in verhoogde sympaticus outflow. Bij de hond, kat, konijn en wellicht ook de mens vermindert centrale serotonerge activatie de sympaticus outflow waarschijnlijk voornamelijk via bulbospinale serotonerge banen.

2.4. Serotonine en hypertensie

2.4.1. Inleiding

Essentiële hypertensie wordt gekarakteriseerd door het voorkomen van hoge bloeddruk, het bestaan van een hoge vaatweerstand en het ontbreken van een causale oorzaak (128). Page, reeds vaak genoemd als pionier op het gebied van serotonine, onderkende als een der eersten dat verscheidene factoren bij het ontstaan van essentiële hypertensie in het spel zijn : de mozaïektheorie (286).

In zijn uitgebreide overzicht over essentiële hypertensie heeft Folkow de punten waarover consensus bestaat samengevat:

1. Genetische predispositie (mens, rat).
2. Omgevingsfactoren (zout, stress).
3. Structuurveranderingen in hart en arteriën (hypertrofie).
4. Haemodynamische veranderingen van hart-minuutvolume en vaatweerstand.
5. Verhoogde sensitiviteit van vaatwanden voor vasopressoren.
6. Verhoogde activiteit van het sympatisch zenuwstelsel.
7. Invloed van hormoonstelsels (renine, angiotensine, aldosteron, dopamine, prolactine, parathormoon, natriuretisch hormoon, antidiuretisch hormoon).
8. Resetting van baroreceptoren (hart, longen, arteria carotis en nieren).
9. Betrokkenheid van de nier.

Uiteraard is getracht ook voor serotonine een plaats te vinden in de uitgebreide reeks van hormonen en vasopressoren, die verantwoordelijk geacht worden voor het ontstaan van essentiële hypertensie.

Echter plasmaspiegels van serotonine (zie ook Hoofdstuk 1) bij hypertensieve personen bleken niet verhoogd en gaven geen steun aan deze "serotonine-hypothese" (10). Verder waren, ondanks aanvankelijke gunstige publicaties, de ervaringen met serotonine antagonisten bij de behandeling van hypertensie niet onverdeeld gunstig. De behandeling met het benzyl analoon van serotonine (BAS) 72 mg per dag gedurende 18 weken gaf bij slechts 25 procent van de onderzochte patiënten met essentiële hypertensie een bloeddrukdaling van 10 - 20 mmHg. De bijwerkingen waren ernstig en bleken voornamelijk centraal van aard (418, 419). De later ontwikkelde serotonine antagonisten methysergide, lysergzuur diethylamide (LSD) en cyproheptadine, bleken bij hypertensieve patiënten geen duidelijke antihypertensieve eigenschappen te bezitten, deels door de partiële agonistische werking, deels door de centrale agitatie (285). Wellicht een gunstige uitzondering hierop is de recent ontwikkelde serotonine antagonist ketanserine, die zowel in de spontane hypertensieve rat als bij patiënten met essentiële hypertensie acuut en chronisch bloeddrukdaling geeft (zie ook Hoofdstuk 3).

In dit verband is het misschien belangrijk dat in de laatste jaren meer inzicht verkregen is in de interactie tussen trombocyt en vaatwand met serotonine als mediator. Het menselijk bloed bevat 200 - 400 ng/ml serotonine, waarvan het grootste deel in trombocyten opgeslagen is (zie ook Hoofdstuk 1). Dat de zeer lage concentratie in vrij serotonine in circulerend plasma een rol speelt bij het in stand houden van de vaattonus lijkt zeer onwaarschijnlijk.

Het ligt meer voor de hand dat hogere concentraties van serotonine, die bereikt worden na trombocytenuitstrooming gevolgd door release van serotonine, fysiologisch van meer belang zijn.

Tot nu toe is het niet goed mogelijk geweest serotonine concentraties te

meten op het niveau waar release uit trombocytenuitloosingsplaatsvindt: bij de vaatwand. Echter in de arteria mesenterica en in de aorta van de hypertensieve rat en in vaten van het kuiken, konijn en de mens werden met behulp van fluorimetrische methoden serotonine concentraties van ongeveer 400 ng/g droog gewicht aangetroffen (203). Blijkbaar kan na opname door endotheel toch een gedeelte van het serotonine lokaal in de vaatwand doordringen, zodat perifere effecten van serotonine ter plekke geenszins uitgesloten zijn.

Hoewel enerzijds noch de variabele effecten (met name de vasodilatatie in arteriolen) van serotonine en het normale plasma serotonine gehalte van hypertensieve patiënten, noch de ervaring met serotonine antagonisten bij behandeling van hypertensie steun geven aan de hypothese dat serotonine betrokken zou zijn bij het ontstaan of onderhouden van hypertensie, zijn er anderzijds toch wel aanwijzingen die de "serotonine hypothese" kunnen ondersteunen (zie ook 384-390, 411, 412). Hieronder zal worden ingegaan op een aantal mechanismen waardoor serotonine betrokken zou kunnen zijn bij ontstaan of onderhouden van hypertensie.

2.4.2. Serotonine en effecten op bloedvaten bij hypertensie

Reeds in 1959 vonden Doyle en anderen (105) dat de vasoconstrictie na intra-arteriële infusie van serotonine (maar ook van noradrenaline) groter was bij hypertensieve patiënten dan bij normotensieve controle personen. De verhoogde respons op verschillende pressor substanties werd nadien bevestigd en lijkt zeker niet specifiek voor serotonine (65, 74, 75, 248). Echter de respons op serotonine van de geperfundeerde arteria mesenterica van de hypertensieve rat bleek vier maal zo sterk als de (eveneens verhoogde) respons op angiotensine (248). Deze verschillen kunnen niet alleen uit structurele vaatwandveranderingen verklaard worden maar suggereren een voor serotonine selectief mechanisme. Meer aanwijzingen daarvoor werden verkregen uit experimenten met de arteria mesenterica van de spontaan hypertensieve, renaal hypertensieve of DOCA hypertensieve rat, waarbij een sterk verhoogde respons op 10^{-7} - 10^{-4} M serotonine gevonden werd in vergelijking met de respons op noradrenaline, angiotensine, kaliumchloride en bariumchloride (1, 184, 363, 411, 412).

Dat inderdaad bij de verhoogde respons van hypertensieve dieren serotonerge receptoren betrokken zijn moge blijken uit de volgende waarnemingen. De verhoogde reactiviteit op serotonine van de arteria mesenterica van de spontaan hypertensieve rat kon geremd worden met serotonine antagonisten. De pressor reactie op methysergide, een serotonine antagonist met agonistische eigenschappen, is verhoogd bij hypertensieve ratten (411). Uit

studies met geïsoleerde arteriën van DOCA-hypertensieve ratten en normotensieve ratten blijkt dat het cellulaire mechanisme waarop de verhoogde gevoeligheid van hypertensieve vaten voor serotonine kan berusten op veranderde fluxen van kalium en calcium (412).

Wel bleek er een verschil tussen de onderzochte vaatbedden. Van de spontaan hypertensieve rat bleek de aorta en het renale vaatbed zeer gevoelig (9, 75, 76). De vena portae en de geïsoleerde nierarteriën en de geperfundeerde extremiteiten van de spontaan hypertensieve rat (maar niet van de renale en DOCA hypertensieve rat) zijn minder gevoelig (9, 184).

Ook de leeftijd speelt een rol. Serotonine systemisch toegediend aan de jonge (zes tot acht weken oude) spontaan hypertensieve rat liet geen verhoogde respons zien (65). De vasculaire respons in het model van de geïsoleerde en geperfundeerde nier van de hypertensieve rat is uitgebreid onderzocht. Ook hier is de versterkte pressor respons op serotonine aantoonbaar en deze respons is groter dan de eveneens versterkte respons op angiotensine-II, noradrenaline en bariumchloride (74-76).

Bovendien bleek serotonine in de spontaan hypertensieve rat in vergelijking met de normotensieve rat een verhoogd indirect sympaticomimetisch effect te hebben (zie ook hoofdstuk 1). Dit verschil was verdwenen na denervatie met 6-hydroxydopamine (75). In hetzelfde model van de geperfundeerde rattenier werd aangetoond dat de reactie op herhaalde toediening van maximale doses serotonine (10^{-5} M) na ongeveer twintig minuten teruggedaan was tot vijftig procent van de initiële respons: tachyfy-laxie. Nieren van de spontaan hypertensieve rat toonden een vertraagde tachyfy-laxie, dat wil zeggen zij bleven na veertig minuten nog een duidelijke respons tonen op serotonine, maar niet op noradrenaline. De ontwikkeling van tachyfy-laxie op serotonine werd niet beïnvloed door denervatie of voorbehandeling met PCPA, zodat de vertraagde tachyfy-laxie niet werd gemedieerd door adrenerge tonus of verandering in serotonine spiegels (74-76). Het is mogelijk dat de dichtheid of eigenschappen van de serotonine receptor op de vaatwand van de spontaan hypertensieve rat veranderd worden door langdurige blootstelling aan hoge bloeddruk zoals dit ook beschreven is voor andere receptoren (128).

In de zestiger jaren werd reeds voor de arteria mesenterica en de arteria femoralis van de hond vastgesteld dat zeer lage concentraties serotonine (10^{-10} M) in staat waren de contracties op noradrenaline te versterken (99, 283). Deze potentiatie (amplificatie) door serotonine is inmiddels beschreven voor vele vaatbedden en niet alleen voor noradrenaline maar ook voor angiotensine-II, histamine, vasopressine, tromboxaan- A_2 , fibrinogeenafbraakprodukten en prostaglandine- F_{2a} (91, 129, 198, 245, 395, 396). De versterking van de respons op catecholamines lijkt niet verklaard te zijn door competitie met het MAO, omdat de amplificatie niet door MAO-remming

beïnvloed wordt (422). Ook in de amplificatie respons lijkt verschil tussen hypertensieve en normotensieve vaten. De arteria mesenterica van de hypertensieve rat en de arteria femoralis van het renaal hypertensieve konijn reageren met een hogere amplitude bij een lagere dosering serotonine in vergelijking met die van normotensieve dieren (304, 363). Dit effect van serotonine kan geremd worden door calcium-entry-blockers. Een toename van calcium-entry in de gladde spiercel zou één van de mechanismen kunnen zijn, waarop amplificatie berust (304, 391, 392).

2.4.3. Serotonine en trombocyten bij hypertensie

Nadat serotonine gesynthetiseerd is in de enterochromaffiene cellen komt het terecht in de circulatie. Het grootste deel wordt verwijderd door lever- en longendotheel door opname en metabolisatie. Datgene wat aan deze klaring ontsnapt wordt via een actief mechanisme opgenomen door de trombocyten (zie Hoofdstuk 1). Als trombocyten aggregeren komt serotonine vrij, ($\pm 10^{-6}$ M) waarbij de stof op zijn beurt verdere aggregatie stimuleert. Het lijkt een aantrekkelijke hypothese dat serotonine, op deze manier vrijgemaakt uit de trombocyt, zijn werking lokaal op de vaatwand ontplooit. Theoretisch gezien zou (a) een verminderde opname door trombocyten, (b) een grotere serotonine release en (c) een versnelde turn-over in de plaatjes kunnen leiden tot verhoogde serotonine concentraties bij de vaatwand, met alle gevolgen van dien.

Verskillende groepen onderzoekers vonden inderdaad een verminderde opname voor serotonine door de trombocyten van patiënten met hypertensie (10, 32, 35, 211, 212). Ondanks de sterk verschillende incubatietijden van dertig seconden (212) tot dertig minuten (35) werd in beide studies een duidelijk verlaagd serotonine gehalte in trombocyten gevonden, met een reductie van dertig tot vijftig procent. Van zestien patiënten met essentiële hypertensie werden zeven familieleden uit vijf families onderzocht. De meeste familieleden bleken een verlaagd plaatjesserotonine gehalte te hebben, ook de normotensieve personen (212). De circulerende remmer van de natriumkalium-ATPase afhankelijke pomp van erythrocyten en ook ouabaine remden de ^3H -serotonine opname van menselijke bloedplaatjes (211). Of de verminderde serotonine opname door bloedplaatjes bij hypertensie een gevolg of de oorzaak is van hypertensie, is niet uit te maken. Echter ook als secundair fenomeen kan de verminderde opname bij de hypertensieve patiënten zorgdragen voor een hogere concentratie serotonine bij de vaatwand en daarmee de hypertensie in stand houden.

Bij verschillende cardiovasculaire ziekten is een verhoogde neiging tot trombocyten aggregatie beschreven. Vaak is deze aggregatie gemeten met

behulp van plaatjes-specifieke eiwitten als merkers, zoals β -tromboglobuline en plaatjes factor-4 (307, 340). Bij ziekten zoals obstructief arterieel vaatlijden, diabetische microangiopathie, cerebrovasculaire accidenten, ischemische hartziekten, trombo-embolische processen, hyperlipaemie, roken, stress en migraine worden verhoogde β -tromboglobuline en plaatjes factor-4 spiegels gevonden (217, 340). Verschillende studies hebben inmiddels aangetoond dat *in vitro* de trombocyten van hypertensieve patiënten vergeleken met normotensieve controlepersonen een verhoogde aggregatie tonen ook op serotonine (68, 92, 264, 303, 406). Behandeling bij tien patiënten met hypertensie met een centraal werkend antihypertensivum normaliseerde de bloeddruk en ook de β -tromboglobuline spiegel (264). Daarmee is echter nog geen oorzakelijk verband gelegd tussen trombocytenaggregatie, serotonine release en hypertensie; juist centraal werkende middelen verlagen ook de catecholaminespiegels waarmee de aggregatieremming verklaard kan worden. Nadat de trombocyten gestimuleerd worden (bijvoorbeeld door collageen of trombine) worden vele vasoactieve stoffen vrij gezet uit de trombocyt of de vaatwand. Vasoconstrictoren die vrij komen zijn onder andere serotonine, prostaglandines (PGH_2 , PGG_2 , tromboxaan- A_2 en PGF_{2a}), arachidonzuurmetabolieten en ADP en ATP (89, 92). Ook vasodilatoren worden vrijgemaakt. Uit de bloedplaatjes afkomstig zijn de prostaglandines PGD_2 en PGE_2 en van het endotheel zijn afkomstig prostacycline en een "endothelium-derived-relaxant-factor" (71, 92). Serotonine, 10^{-6}M , versterkt de trombocytenaggregatie van humane trombocyten, (geïnduceerd door collageen, ADP, adrenaline en noradrenaline) en amplificeert tevens de door andere vasoactieve stoffen veroorzaakte vasoconstrictie (89). De amplificatie van de door plaatjes geïnduceerde contractie van de staartarterie van de rat is te remmen met de serotonine antagonist ketanserin, maar niet met de cyclo-oxygenaseremmer suprofin (88, 89, 90).

De verkorte plaatjesoverlevingsduur en de verhoogde release van serotonine geven steun aan het feit, dat de trombocyten aggregatie bij hypertensieve patiënten verhoogd is. Hoewel niet meetbaar, is het niet onmogelijk dat door de versnelde turnover en verhoogde aggregatie bij hypertensieve patiënten meer serotonine vrijkomt bij de vaatwand.

Bij de jonge (vier weken oude) spontaan hypertensieve rat is een verhoogde turnover van serotonine in trombocyten vastgesteld (349). Deze bevindingen worden indirect gesteund door de verhoogde synthese van serotonine in de spontaan hypertensieve rat (168). Ook in de vaatwand van de spontaan hypertensieve rat werd een hogere serotonine turnover ten opzichte van catecholamines vastgesteld (203). De reeds eerder aangehaalde studies over verhoogde trombocyten aggregatie bij de hypertensieve mens impliceren een verhoogde turnover van serotonine in de trombocyten; wel-

is waar wordt in de trombocyten een verlaagd serotonine gehalte aangetroffen (30-50 procent), echter de trombocyten zijn zeker niet serotonine gedepleteerd (68, 211, 264).

2.4.4. Serotonine en endotheel bij hypertensie

Als het endotheel, dat in de normale situatie een gave begrenzing van het cardiovasculaire systeem vormt, beschadigd is of wordt, treedt ter plekke trombocytenaggregatie op, geïnitieerd door het onderliggende collageen en gladde spiercellen (45). Het intacte endotheel bezit een fysiologisch anti-aggregatie mechanisme door de productie van prostacycline enerzijds en door opname en metabolisatie van vrijkomende aggregatie producten anderzijds. Dr. Furchgott en zijn groep ontdekten het belang van de intacte endotheellaag in het initiëren van vaatrelaxatie door histamine, trombine, bradykinine en acetylcholine (voor overzichtsartikel zie 139). Andere onderzoekers stelden vast, dat de door aggregerende plaatjes of serotonine ($10^{-6}M$) geïnduceerde contractie van de geïsoleerde coronairarterie van de hond versterkt wordt na verwijdering van het endotheel (70-72). De aanwezigheid van endotheel kan zelfs de door trombocyten ($3 \times 10^7/ml$) of serotonine ($10^{-7}M$) te weeg gebrachte contractie ombuigen in relaxatie. Deze endotheel gemedieerde relaxatie werd niet waargenomen bij de arteria femoralis, arteria pulmonalis en de vena saphena van de hond. Dat serotonine deze reactie medieert via receptoren op het endotheel, blijkt uit de waarneming dat alleen intraluminaal toegediend serotonine relaxatie geeft (70-73). Uit deze gegevens is het niet moeilijk in te zien dat bij destructie of disfunctie van endotheel meer "vrij" serotonine op de vaatwanden kan inwerken. Het gevolg is dat opname en metabolisatie van serotonine is verminderd, de trombocytenaggregatie niet gedempt wordt door prostacycline en de endothelium-derived-relaxant-factor niet meer vrij gemaakt wordt (73). Bij langdurig bestaande hypertensie wordt de vaatschade voornamelijk gekarakteriseerd door mediaproliferatie en intima degeneratie (128). Atherosclerotische vaten van konijnen en apen zijn verhoogd gevoelig voor serotonine of serotonine agonisten. Deze versterkte respons is te remmen met cyproheptadine (177, 183). Het is derhalve niet ondenkbaar dat spasmen ter hoogte van bestaande atherosclerotische endotheellaesies veroorzaakt worden door de interactie tussen trombocyt en vaatwand, met als mediator serotonine.

2.5. Serotonine en het renine aldosteron systeem

Reeds in 1954 werd vastgesteld dat infusie van serotonine in de arteria renalis bij de hond geen reninesecretie induceerde (284). Toediening van serotonine of precursors bij honden, ratten en mensen geeft een lichte verhoging van de plasmarenine activiteit; deze stijging kan geblokkeerd worden met serotonine antagonisten, maar niet door adrenalectomie (269, 379, 433). Na intraveneuze toediening van 2 mg serotonine bij veertien gezonde vrijwilligers kon geen stijging in de plasmarenineactiviteit vastgesteld worden (257). Na serotoninedepletie met behulp van PCPA of 5,7-DHT daalde de plasmarenineactiviteit bij ratten (379). De door furosemide geïnduceerde stijging van de plasmarenineactiviteit bij de mens kan geremd worden door behandeling met de serotonine antagonist cyproheptadine, 8 mg/dag (115). Bovenstaande gegevens suggereren een toename van de renine secretie onder invloed van serotonine.

Reeds in 1958 werd aangetoond dat subcutane toediening van serotonine aan proefdieren een verhoogde secretie van bijnierschors hormonen teweeg bracht, vergelijkbaar met de effecten van ACTH (328). Aan de hand van *in vitro* studies met gehele bijniere van ratten en cellen van bijniere van patiënten met het syndroom van Cushing werd geconcludeerd dat serotonine de aldosteronsecretie niet stimuleerde (311, 312). Nadat de groep van Haning er in geslaagd was met behulp van collagenase de zona glomerulosa te scheiden van de zona reticularis en de zona fasciculata werd het mogelijk om de effecten van serotonine op geïsoleerde glomerulosacellen te bestuderen (172). Gebruikmakend van deze technieken bleek dat serotonine (10^{-10} - 10^{-4} M) een potente stimulator van de aldosteron (en corticosteron) secretie is (twee- tot zesvoudige verhoging), maar niet zo krachtig als ACTH (veertigvoudige verhoging) (37, 172, 271, 365, 420).

Deze verhoogde aldosteron secretie onder invloed van serotonine vindt plaats door versnelde conversie van cholesterol naar pregnenolon (172, 271). De verhoogde aldosteron secretie lijkt niet afhankelijk van calciumfluxen, maar wordt gemedieerd door directe stimulatie van cyclisch-AMP in de bijnier van de rat (420). De door ACTH gestimuleerde secretie van aldosteron uit bijnier-celsuspensies van patiënten met de ziekte van Cushing, met de ziekte van Conn en van normale rattebijniere is te remmen met serotonine antagonisten (311, 312).

Bij de intacte mens geeft L-tryptofaan- en serotonine-infusie een stijging van aldosteron hetgeen overeenkomt met de *in vitro* gegevens (257, 269). Tevens is de door ACTH gestimuleerde release van aldosteron bij patiënten met primair hyperaldosteronisme met behulp van serotonine antagonisten te remmen (54, 166, 270, 312). Op welk niveau serotonine de aldosteron-secretie beïnvloedt is niet geheel duidelijk. De *in vitro* studies suggereren onmis-

kenbaar een effect op de bijnier door lokale werking op conversiestappen in de syntheseweg van aldosteron. Daarentegen blijkt bij gehypofysectomeerde ratten de aldosteronstijging na serotonine verdwenen te zijn (165). Van serotonine is bekend dat het stimulerende effecten heeft op de hypofyse en hypothalamus, misschien door een toename van de corticotrophin-releasing factor (189).

De rol van serotonine bij het ontstaan of onderhouden van de hypertensie door middel van het renine-aldosteron systeem lijkt zeer dubieus. Serotonine geeft weliswaar een geringe stijging van plasmarenine en aldosteron, maar de behandeling van hypertensie op basis van primair of secundair hyperaldosteronisme met behulp van serotonine antagonisten is tot nu teleurstellend gebleken (258). Sommige onderzoekers menen dat verschillende vormen van "lage renine hypertensie" één entiteit vormen. In dit licht bezien zou een modulerende invloed van serotonine op de secretie van aldosteron een rol kunnen spelen bij de pathogenese van essentiële hypertensie (54).

2.6 Samenvatting

De effecten van serotonine op de bloeddruk zijn zeer variabel door na intraveneuze injectie achtereenvolgens cardiodepressie, vasoconstrictie en vasodilatatie te bewerkstelligen (amfibarische respons). De bloeddruk respons op serotonine-toediening blijkt o.a. afhankelijk te zijn van dosis, toedieningsweg, speciës en rusttonus van de vaten. Of, en zo ja via welke mechanismen, serotonine een rol speelt bij de bloeddrukregulatie van de gezonde mens is geenszins duidelijk. Wel is uit dierexperimenteel onderzoek gebleken, dat serotonine een rol kan spelen bij de centrale regulatie van de bloeddruk, vooral door beïnvloeding van de sympaticus-outflow. Bij de mens zijn daarover geen gegevens voorhanden.

Daarentegen wordt tussen serotonine en ontstaan of onderhouden van hypertensie wel een relatie gelegd. Het vrije serotonine in circulerend plasma is bij patiënten met hypertensie niet verhoogd. Door zowel een verminderde uptake als een versnelde release van serotonine door trombocyten is het plaatjesserotonine bij patiënten met hypertensie 30-50% verlaagd. Gemeten aan plaatjes-specifieke eiwitten blijken de trombocyten van patiënten met hypertensie een verhoogde neiging tot aggregatie (op o.a. trombine en serotonine) te bezitten. Deze versnelde serotonine turn-over van de trombocyten kan bijdragen tot een verhoogde lokale concentratie van serotonine, ter hoogte van de vaatwand.

Vaten van patiënten of dieren met hypertensie reageren met een versterkte vasoconstrictie na toediening van vasopressoren, maar vooral na toediening van serotonine. Dit effect lijkt deels door serotonine selectieve

mechanismen verklaard te kunnen worden. Er is bij hypertensie een verhoogde gevoeligheid van de vaatwand voor serotonine aangetoond, waarschijnlijk samenhangend met veranderingen in serotonine-receptor dichtheid. Vergelijken met de normotensieve rat reageren de vaten van de hypertensieve rat met een hogere en langduriger aanhoudende respons op serotonine-toediening (minder tachyfylixie), waarbij tevens een verhoogd indirect sympaticomimetisch effect kon worden aangetoond. Ook de amplificatierespons na serotonine in combinatie met andere vasopressoren is bij hypertensieve dieren verhoogd.

Daarnaast is niet goed functionerend of niet intact endotheel minder in staat vasodilatatie te initiëren, door verminderde afgifte van vasodilatorische substanties en door verminderde aanwezigheid van de 5-HT₁-receptor. Afgenomen metabolisatie door niet intact endotheel kan de reeds verhoogde concentratie van serotonine niet verlagen en brengt daarmee een vicieuze cirkel van weer versnelde aggregatie en hernieuwde serotoninerelease door trombocyten in beweging.

Hoewel serotonine bij *in vitro* proeven een krachtige stimulator van de aldosteronsecretie is en ook enigszins de reninesecretie stimuleert, is het niet waarschijnlijk dat deze beïnvloeding een belangrijke rol speelt bij het ontstaan van hypertensie.

Hoofdstuk 3

Serotonine receptoren en -antagonisten

3.1. Klassificatie van receptoren

3.1.1. D- en M receptoren

De eerste classificatie van serotonerge receptoren in D- en M receptoren is afkomstig van Gaddum en Piccarelli (141). De verdeling werd gemaakt met behulp van experimenten op geïsoleerde segmenten van het ileum van het Guineese biggetje. Serotonine brengt het darmsegment tot contractie op tweeërlei wijze.

1. Indirect door stimulatie van postganglionaire, cholinerge receptoren gelokaliseerd in de plexus myentericus. Stimulatie van deze receptoren (en secundaire vrijzetting van acetylcholine door serotonine) kan worden geremd door o.a. morfine: M-receptoren.
2. Direct door activatie van serotonerge receptoren gelokaliseerd op de gladde spiercellen van de darm. Dit effect kan worden geantagoneerd door o.a. dibenylamine (fenoxybenzamine): D-receptoren.

De M-receptoren blijken tevens gelokaliseerd te zijn in preganglionaire neuronen in het cervicale ganglion van de kat en het atrium van het konijn (132, 133, 169). Deze atriale presynaptische serotonerge receptor wordt geacht betrokken te zijn bij de zogenaamde Bezold-Jarisch reflex (133).

De onderverdeling in D- en M-receptoren werd verlaten, toen bleek dat

antagonisten, nodig om de receptoren te definiëren, verre van specifiek waren. Bovendien bleek de gevoeligheid voor sommige farmaca tussen dierspecies en zelfs tussen organen in één dier te verschillen (169).

De mogelijkheid van radioactieve labeling van natuurlijke substanties en farmaca en de daaropvolgende radioligand-receptorbindingsexperimenten brachten het onderzoek in een stroomversnelling.

3.1.2. 5-HT₁, 5-HT₂ en 5-HT₃-receptoren

Bennett en medewerkers (33) maakten als eersten gebruik van radioligandbindingen met ³H-lisergzuur-diethylamide (LSD) en ³H-serotonine op homogenaten van rattehersenen en pasten daarbij de snelle filtratietechniek toe om membraangebonden en vrije radioactiviteit te scheiden. Voor een beschrijving van deze techniek wordt verwezen naar het overzicht van Leyssen (236).

³H-LSD en ³H-serotonine (³H-5-HT) binden weliswaar met een hoge affiniteit aan dezelfde bindingsplaatsen, echter er bestaan ook verschillen tussen de bindingen: ³H-5-HT bindt niet aan alle plaatsen die ook met ³H-LSD gelabeld zijn. Dit resulteerde in de zogenaamde "two-state receptor hypothese" met serotonine als agonist en LSD als antagonist (33).

Een derde ³H-ligand, die bond aan serotonerge bindingsplaatsen kwam beschikbaar met spiroperidol, een dopaminerg neurolepticum. De receptorbindingsplaatsen, gelabeld met ³H-spiroperidol waren voor een deel gelijk aan die gelabeld met ³H-LSD, maar verschillend van de ³H-serotonine gelabelde plaatsen. Derhalve werd het "two-state model" verlaten en werd op grond van bindingseigenschappen van ³H-serotonine en ³H-spiroperidol een nieuwe klassificatie voorgesteld: 5-HT₁- en 5-HT₂-receptoren (292, 294).

5-HT₁-bindingsplaatsen kunnen gelabeld worden met ³H-5-HT of ³H-LSD (K_i=2,7 10⁻⁹M). 5-HT₂-bindingsplaatsen kunnen vooral gelabeld worden met antagonisten zoals ³H-spiperon, ³H-LSD, ³H-mianserin, ¹²⁵I-LSD en ³H-ketanserin. De affiniteit van serotonine en spiroperidol voor de verschillende bindingsplaatsen is dermate uiteenlopend dat op grond hiervan het bestaan van twee verschillende receptoren, casu quo bindingsplaatsen, mag worden aangenomen (295).

Door de binding van farmaca aan deze bindingsplaatsen te correleren met effecten (zoals contractie van de gladde spiercel van de vaatwand) is waarschijnlijk gemaakt dat deze bindingsplaatsen als receptoren beschouwd mogen worden (295, 499). Nadien zijn subklassificaties aangebracht voor de 5-HT₁-bindingsplaatsen, te weten: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} en 5-HT_{1C} receptoren (236).

Recent is er een voorstel gedaan om de serotonerge receptoren onder te

verdelen in 5-HT₁, -2 en -3 receptoren (48). Nieuw ontwikkelde serotonine antagonisten zoals MDL-72222 en ICS-205-930 binden niet op de 5-HT₂ receptor of 5-HT₁ receptor. Daarmee zou een 5-HT₃ receptor geïdentificeerd zijn, min of meer identiek met de klassieke M-receptor. De D-receptor en de 5-HT₂ receptor hebben affiniteit gemeen voor een aantal serotonine-antagonisten zoals spiperon, ketanserin, cyproheptadine, pizotifen, methysergide en LSD (242). De mate van affiniteit is echter dermate verschillend, dat er niet van één en dezelfde receptor gesproken mag worden.

Voor de 5-HT₁ receptor zijn nog geen specifieke antagonistische beschreven, wel voor de 5-HT₂ receptor. Een overzicht wordt gegeven in tabel 3.1.

Tabel 3.1. Klassificatie van serotonine receptoren, agonisten en antagonistische, mogelijke lokalisatie en functie gemedieerd door de receptoren

Receptor bindingsplaats	Agonist	Antagonist	Lokalisatie	Functie	
5-HT ₁	5-HT 5-CT	methiotepin*	cerebrum	neurotransmitter	
		methysergide	nerve terminals		
	A B C	8-OH-DPAT	bufotenin	endotheel hart	vasodilatatie
			cyanopindolol	hippocampus nerve terminals plexus chorioideus	5-HT release vermindering
5-HT ₂	LSD** methysergide**	ketanserin	cortex		
		mianserin	ileum		
		ritanserin	trombocyt	shape-change	
		mesergulin	endotheel?	contractie	
		methysergide	neuronen		
		cyproheptadine LSD	SA-knoop vasculaire spiercel	vasoconstrictie	
5-HT ₃	2-CH ₃ -5CT	MDL 72222	darm?	"M receptor"?	
		ICS 205-930	hart?		
	5-HT	cocaïne		depolarisatie	

* niet selectief

** partiële agonisten

3.2. Localisatie van en effecten gemedieerd door 5-HT₁, 5-HT₂ en 5-HT₃ receptoren

3.2.1. 5-HT₁ receptoren

3.2.1.1. Lokalisatie en subklassificatie

De 5-HT₁-bindingsplaatsen, gelabeld met ³H-5-HT worden het meest aangetroffen in de cortex, hippocampus en het corpus striatum van rattenheren (33, 290, 310) en in mindere mate in het tuberculum olfactorium, thalamus, plexus chorioideus en ruggemerg (234, 287, 348). Daar destructie van serotonerge neuronen de bindingscapaciteit van ³H-5-HT niet verlaagt, is het waarschijnlijk dat deze bindingsplaatsen op postsynaptische receptoren gelokaliseerd zijn (33). Op grond van bifasisch verlopende inhibitiecurves van ³H-5-HT binding tegen spiperon (290) en tegen ³H-8-hydroxy-2-propylaminetetaline (³H-8-OH-DPAT) werd subklassificatie van de 5-HT₁ receptoren voorgesteld (48). De 5-HT_{1A}-receptor wordt vooral gebonden door indol derivaten zoals serotonine, 8-OH-DPAT, spiperon, methiotepine en pizotifen. De 5-HT_{1A}-receptor zou vooral in het striatum gelokaliseerd zijn. Deze receptor is ook buiten het centrale zenuwstelsel gelokaliseerd en wel in parasympatische zenuwuiteinden van het ileum en op gladde spiercellen van arteriën (409). De 5-HT_{1B}-receptor bindt zich vooral met serotonine-antagonisten zoals piperazine en quipazine, maar niet met 8-OH-DPAT en andere serotonine antagonisten (290, 347). De 5-HT_{1B}-receptor zou vooral postsynaptisch in de globus pallidus gelokaliseerd zijn. Recent is ook het bestaan van een 5-HT_{1C}-receptor gesuggereerd, gelokaliseerd in de plexus chorioideus en maag van de rat, die niet de affiniteitskenmerken van de A- en B-receptor toont (160).

Door studies met geïsoleerde vaten is het bestaan van een 5-HT₁ receptor op het endotheel van de coronairarterie (71), de extracerebrale AV-shunt (110, 337, 338, 404) en het splanchnicus vaatbed (399) gepostuleerd.

In de atria en ventrikels van het kattehart heeft 5-hydroxytryptamine en 8-OH-DPAT een positief chronotroop en inotroop effect. Dit effect kan gedeeltelijk worden geantagoneerd met methysergide, maar niet met ketanserine (213). Hoewel de cardiale 5-HT receptoren nog niet goed gedefinieerd zijn zou een deel van de receptoren uit 5-HT₁ receptoren kunnen bestaan.

De 5-HT receptoren op de trombocyt binden zowel met ³H-5-HT als met ³H-LSD en ³H-ketanserine (235) zodat een deel van deze receptoren als 5-HT₁-receptor gedefinieerd kan worden (299).

3.2.1.2. Effecten

De meeste effecten van serotonine die gedacht worden door 5-HT₁-receptoren gemedieerd te zijn werden bestudeerd met behulp van agonisten (bufotenine, serotonine, tryptamine en 8-OH-DPAT) en antagonisten (methergoline, methiopine, pipamperon en LSD). Voor een overzicht van de bindingsaffiniteit t.o.v. de 5-HT₁-receptor van de agonisten en antagonisten wordt verwezen naar tabel 3.1. Omdat geen specifieke 5-HT₁-receptor antagonisten voorhanden zijn (alle genoemde stoffen hebben een $K_i > 10^{-9}M$ voor 5-HT₁- en $< 10^{-9}M$ voor 5-HT₂-bindingsplaatsen) zijn de studies meestal niet eenduidig.

Het zogenaamde serotonine-excitatiesyndroom bij ratten, bestaande uit hypermotoriek, "headshake" en tremoren, kan worden opgewekt door 8-OH-DPAT toediening en is te blokkeren met metergoline, doch niet met ketanserine, hetgeen een betrokkenheid van de 5-HT₁-receptor suggereert (zie 236). De 5-HT₁-receptor lijkt betrokken bij de stimulatie van de adenylylcyclase en het fosfatide-linositol systeem, waaruit activatie van centrale neuronen verklaard kan worden. Daarentegen worden via dezelfde receptor ook remmende effecten op serotonine- en acetylcholine release gemedieerd (160). De vasodilaterende effecten van serotonine op het geperfundeerde maagpreparaat (388), op de van endotheel voorziene coronair arterie van de hond (71) en op de extracerebrale piaale vaten (337, 404) worden geantagoniseerd door methysergide en methiotepine, hetgeen op activatie van de 5-HT₁-receptor wijst (207). De laatste fase van de trifasische respons (langdurige hypotensie) na inspuiting van serotonine zou door de 5-HT₁ receptor gemedieerd kunnen worden.

3.2.2. 5-HT₂ receptoren

3.2.2.1. Lokalisatie

Gebruik makend van labeling met ³H-spiroperidol, ³H-ketanserine, ³H-metergoline, ³H-mianserine en recent met een fotoaffiniteitslabeling met 7-azidoketanserine is de distributie van de 5-HT₂-receptoren redelijk in kaart gebracht (428). Deze receptoren lijken in de hersenen vooral gelokaliseerd in de prefrontale cortex (niet in de centrale gyri) het tuberculum olfactorium, het striatum, en de nucleus raphe dorsalis (225, 234, 287). Op de trombocyt en in de sinusknop van het rathart zijn met behulp van ³H-ketanserine labeling 5-HT₂-receptoren aangetoond (92, 235).

Hoewel dosis-respons studies van de effecten van 5-HT₂ agonisten en antagonisten op vaten en bronchi het bestaan van een perifeer gelokali-

seerde 5-HT₂-receptor suggereren, is deze met behulp van radiolabeling nog niet aangetoond. Weliswaar zijn er met serotonine gelabelde axonen getraceerd in het cerebrale vaatbed en in de plexus myentericus, maar tot nu toe berust het bestaan van een vasculaire 5-HT₂-receptor op indirecte bewijsovervoering (110, 144, 302, 399).

3.2.2.2. Effecten

De effecten gemedieerd door de 5-HT₂-receptoren zijn tot nu toe beter gerubriceerd en onderscheiden dan de effecten van 5-HT₁ receptoractivatie, omdat de bekende serotonine antagonisten een hogere affiniteit hebben voor de 5-HT₂-receptor-bindingsplaats (zie overzicht 236).

Centrale effecten:

In vivo zijn een aantal centrale effecten van serotonine of serotonine-agonisten of precursors te remmen met 5-HT₂-receptor antagonisten. De headshake-respons, een excitatie syndroom gepaard gaande met hallucinaties en insulten, en de 5-HTP geïnduceerde myoclonieën zijn te remmen met 5-HT₂-antagonisten (152, 154). De door LSD en quipazine geïnduceerde angst, hallucinatie en depressie worden verminderd na behandeling met 5-HT₂-receptorantagonisten (202, 294). De remming door serotonine antagonisten (methysergide, LSD, cyproheptadine, methergoline, mianserin) van de door mescaline veroorzaakte hyperkinesie correleert goed ($r=0.98$) met de affiniteit van deze antagonisten voor de 5-HT₂-receptor (in casu de ³H ketanserin bindingsplaats)(236).

Effecten op vasculaire spiercellen:

Perifere cardiovasculaire effecten van serotonine *in vivo* zijn reeds uitgebreid beschreven in hoofdstuk 1. De door serotonine geïnduceerde bloeddrukstijging in gepende ratten wordt volledig geblokkeerd door de 5-HT₂-antagonist ketanserin (134, 135, 208). Intraveneuze infusie van serotonine geeft lokale vasoconstrictie van de hand die ongedaan gemaakt wordt met 5-HT₂-blokkade (201).

De meeste geïsoleerde vaten reageren op toediening van serotonine met een dosisafhankelijke contractie (zie ook hoofdstuk 1.1.4.). De vasoconstrictie wordt weliswaar geremd door serotonine antagonisten maar lang niet altijd competitief. De remming door antagonisten van de door serotonine

geïnduceerde (10^{-10} - 10^{-7} M) contractie van de staartarterie van de rat correleert goed ($r = 0.98$) met de binding aan de ^3H -spiroperidol receptor in de cortex en niet met de binding aan ^3H -5-HT receptoren in de hippocampus (234, 395-399). Voor de geïsoleerde vena jugularis en aorta van de rat kon eveneens een relatie gelegd worden tussen remming van contractie en binding aan de 5-HT₂-bindingsplaats (70). De 5-HT₂-receptorantagonist ketanserin is in staat de door serotonine opgewekte contracties in de geïsoleerde arteria coronaria, arteria femoralis, arteria gastrosplenicus, arteria basilaris, arteria carotis interna, vena saphena en vena gastrosplenica dosisafhankelijk te remmen (39, 130, 295, 393, 399). In het model van de geïsoleerde en geperfundeerde nier van de normotensieve en hypertensieve rat remt ketanserin de door serotonine veroorzaakte vasoconstrictie in het renale vaatbed (393).

In de staartarterie van de rat voorkomt ketanserin in zeer lage concentraties (10^{-7} - 10^{-8} M) het amplificerende effect van serotonine op noradrenaline, histamine, angiotensine-II en PGF_{2α}. Blijkbaar is dit amplificerende effect van serotonine gerelateerd aan een binding aan de 5-HT₂-receptor (398, 399).

De vasoconstrictie die optreedt in de arteria coronaria van de hond of arteria caudalis van de rat na blootstelling aan gewassen bloedplaatjes wordt geacht veroorzaakt te zijn door release van serotonine, tromboxaan A₂ en PGF_{2α} afkomstig uit de trombocyt. Gedeeltelijk kan deze contractie worden opgeheven door voorbehandeling met 5-HT₂-receptor antagonisten zoals ketanserin (10^{-10} - 10^{-7} M), cyproheptadine en methysergide (245, 399). Bovenstaande gegevens zijn geheel compatibel met de conclusie dat de vasoconstrictie door serotonine gemedieerd wordt door de 5-HT₂-receptor. Een uitzondering op de regel wordt gevormd door de arteria basilaris en vena saphena van hond en mens en de arteria carotis van het konijn, waarbij ketanserin, cyproheptadine en methysergide een niet competitieve remming van de doses-responscurve geven (21, 38, 82, 399).

Effecten op niet vasculaire spiercellen:

De dosis-respons curves van serotonine bij strips van de arteria caudalis en maagfundus van de rat verschillen sterk. De maagfundus blijkt ongeveer 200 maal gevoeliger te zijn dan de vaatstrip. De trachea van het Guinese biggetje is driemaal gevoeliger dan het ileum van dit species (234, 397). Noch de 5-HT₂-antagonisten, ketanserin en mianserin, noch de gemengde 5-HT₁-/5-HT₂-antagonisten, cyproheptadine, methysergide, LSD, bezitten een duidelijke bindingsaffiniteit voor het ileum en fundus, echter wel voor de trachea (397). De serotonine geïnduceerde bronchoconstrictie is dus mogelijk

5-HT₂-receptor gemedieerd, terwijl de contracties in de tractus digestivus niet duidelijk via 5-HT₂- of 5-HT₁-receptoren verlopen. Daarentegen is de contractie van de geïsoleerde rat-uterus te remmen met spiroperidol en ketanserin en in mindere mate met ergometrine en methysergide (268).

Effecten op cellulair niveau:

De trombocyt bezit tenminste twee serotoninereceptoren op zijn oppervlak. De lage-affiniteit-receptor die vooral serotonine transport medieert (bindt met ³H-LSD en ³H-5-HT) en de hoge-affiniteit-receptor die trombocyten aggregatie en vormverandering medieert (te labelen met ³H-ketanserin) (235). Voor de trombocytenaggregatie door serotonine en het amplificerende effect van serotonine op aggregatie ten gevolge van trombine is de 5-HT₂-receptor op de trombocyt essentieel (86, 90, 299). Er is een goede correlatie tussen affiniteit van serotonine antagonisten voor de 5-HT₂-bindingsplaatsen en het vermogen om de door serotonine opgewekte vormveranderingen en aggregatie te remmen (88, 145, 235).

Op cellulair niveau lijkt activatie van de 5-HT₂-receptor (op de trombocyt) de turnover van inositol-fosfolipide te stimuleren, als primaire cellulaire respons op de serotonine receptor activatie. De accumulatie van deze fosfaten zet op zijn beurt de mobilisatie van intracellulair calcium in gang: het calcium fungeert hierbij als second messenger (194). Of de door serotonine gestimuleerde synthese van prostacyclines en van EDGF door gekweekte endotheelcellen afkomstig van de aorta ook via deze weg verloopt is niet duidelijk (80).

3.2.3. 5-HT₃-receptoren

3.2.3.1. Lokalisatie

Omdat nog geen specifieke radioligand voor 5-HT₃ receptoren beschikbaar is, wordt gebruik gemaakt van studies met agonisten (5-HT en 2-methyl-5-HT) en antagonisten (MDL 72222, ICS 205-930). Op grond van deze waarnemingen is aannemelijk dat de 5-HT₃ receptor gelokaliseerd is in afferente neuronen (N vagus), sympathische neuronen (konijnshart), parasympathische enterale neuronen, in de cortex van de rat en in neuroblastoom cellen (160, Fozard J., persoonlijke mededeling).

3.2.3.2. Effecten

De effecten gemedieerd door 5-HT₃ receptoren worden gekarakteriseerd door depolarisatie van de onderzochte neuronen. Hierbij treedt release van noradrenaline of acetylcholine op. De Bezold-Jarisch reflex zou via de 5-HT₃ receptor gemedieerd zijn (160).

3.3. Serotonine-antagonisten

3.3.1. Inleiding

Onder serotonine-antagonisten verstaan we die stoffen die door de bezetting van serotonerge receptoren of bindingsplaatsen de effecten van serotonine antagoneren. De farmaca die effecten van serotonine op andere wijze beïnvloeden zoals de precursors (tryptofaan en 5-HTP), de synthesremmers (parachloorfenylalanine en parachloro-amfetamine), de monoamino-oxydaseremmers (iproniazide, tranquilpromine en parchiline), de serotonine uptakeremmers uit de groep van de tricyclische en aspecifieke antidepressiva (chloorimipramine en amitriptyline) en de uptake en storage remmers (reserpine en fenfluramine) worden buiten beschouwing gelaten (voor overzicht: zie 142).

Het onderzoek naar en de classificatie van serotonine-antagonisten stuitte in de zestiger jaren op grote moeilijkheden. Een indeling naar receptoren in D-receptor- en M-receptor-antagonisten bleek niet houdbaar, omdat van enige selectiviteit van de antagonisten morfine, atropine en dibenylamine geen sprake was. Toen bleek dat sommige serotonine antagonisten ook partieel agonisten waren en onvoldoende selectief waren of α -selectief waren, stelde Gyermek een indeling naar chemische structuur van de antagonist voor (169). Hij verdeelde de antagonisten in een aantal groepen, te weten:

1. ergotalkaloïden en afgeleiden
2. indolring bevattende stoffen
3. antihistaminica
4. fenothiazines
5. anti-adrenerge stoffen
6. morfine-achtige stoffen

Een separate indeling, ook afkomstig van Gyermek, betreft de blokkade van effecten op gladde spieren (musculotrope stoffen) of op neurale respons (neurotrope stoffen). Van een aantal musculotrope farmaca (methysergide, cyproheptadine) echter werd ook een centrale werking aangetoond (6, 17-19).



Tabel 3.2. Receptoraffiniteit, effecten en toepassing van enkele serotonine antagonisten

Groep	Stof	Receptorbindingaffiniteit					
		serotonerg			adrenerg	histaminerg	dopaminerg
		5-HT ₁	5-HT ₂	5-HT ₃			
Ergot alkaloiden	LSD	+	+	—	±	—	±
	methysergide	+	+	—	±	—	±
	dihydroergotamine	±	+	—	+	—	+
Indole derivaten	tryptamine	±	±	±?	±	—	—
	BAS	±	±	—	±	—	—
Antihistaminica	cyproheptadine	±	+	—	±	+	±
Phenothiazines	Chloorpromazine	±	+	—	+	+	+
α-blokkers	Phentolamine	—	±	+	+	—	—
Morfines	Apomorfine	—	—	+	—	—	±
Dopamine blokkers	Spiroperidol	—	+	—	+	—	+
Tetracycl-Antidepress.	Mianserin	—	+	—	±	+	—
5-HT ₂ -antagonisten	Ketanserin	—	+	—	±	±	—
	Ritanserin	—	+	—	—	—	—

+ hoge affiniteit

± zwakke affiniteit

— geen affiniteit

In het kader van dit hoofdstuk wordt de verouderde indeling in D- en M-receptor-antagonisten of musculotrope en neurotrope antagonisten verlaten en zal getracht worden de "klassieke" en meer recent ontwikkelde serotonine-antagonisten te rubriceren naar hun affiniteit voor de 5-HT₁- of 5-HT₂-receptoren (zie ook tabel 3.2). De effecten alsmede de toepassingen van enkele groepen van serotonine-antagonisten zullen besproken worden.

3.3.2. Klassieke serotonine-antagonisten

3.3.2.1 Ergotalkaloïden en derivaten

De derivaten van ergotalkaloïden waren de eerste stoffen die herkend werden als serotonine antagonist, met name naar aanleiding van de antagonistische werking *in vitro* op arteriën van het schaap en de geïsoleerde uterus. Voor een uitgebreide beschrijving van de effecten wordt verwezen naar overzichtsartikelen van Müller-Schweinitzer (273) en Gyermek (169).

Deze stoffen hebben een complexe werking op vaatbedden door een wisselende combinatie van partiële remming via α_1 - en α_2 -adrenoceptoren en competitieve en niet-competitieve 5-HT₁- en 5-HT₂-receptorblokkade en activatie. De effecten zijn afhankelijk van het bestudeerd vaatbed. Verder blijkt molecuulgrootte een rol te spelen. De kleine derivaten zoals lysergzuur-diethylamide (LSD), D-LSD, methysergide en ergometrine, lijken de meest potente en specifieke serotonine antagonist te zijn, terwijl de grotere derivaten ergotamine, ergotoxine en de dihydroderivaten minder specifiek zijn, door zowel binding aan 5-HT als aan α -adrenerge receptoren.

D-lysergzuur-diethylamide (LSD):

De zeer potente en selectieve serotonine antagonist LSD voorkomt de door serotonine geïnduceerde vasoconstrictie in o.a. de oortarterie van de rat, nier- en pulmonale arterie van kat en hond, geperfundeerde extremitetsarteriën van hond en kat, arteria cerebri media van de geit, en arteria basilaris van de hond.

De stof remt de door serotonine opgewekte bloeddrukstijging in genarcotiseerde honden en "gepende" ratten. LSD induceert een syndroom, sterk gelijkend op het serotonine-excitatiesyndroom met hallucinaties, stupor en excitatie. Of dit syndroom veroorzaakt wordt door een serotonineblokkade of anderszins ingrijpen in de serotonine stofwisseling is op grond van *in vivo* experimenten niet uit te maken.

LSD bindt met ongeveer gelijke affiniteit aan 5-HT₁- en 5-HT₂-bindings-

plaatsen (K_i respectievelijk 20 en $8,1 \cdot 10^{-9}$ M) en dopaminereceptoren (K_i $20 \cdot 10^{-9}$ M) en in mindere mate aan α_1 - en α_2 - adrenerge receptoren (K_i 10^{-7} M). De stof bindt niet aan histaminerge en cholinerge receptoren (27, 233, 235). De door LSD veroorzaakte hallucinaties bij de rat zijn mogelijk 5-HT₂-receptor gemedieerd (294). Gelet op de affiniteit van LSD voor de 5-HT₂-bindingsplaats lijkt een serotonine-antagonisme op vaatbedden en ratte-uterus verklaard te kunnen worden door blokkade van deze receptor.

Vanwege de ernstige hallucinogene effecten is LSD nimmer als effectieve serotonine-antagonist bij hypertensie of carcinoïd-syndroom toegepast. Het 2-bromo-LSD (BOL), dat minder hallucinogene eigenschappen bezit, was niet in staat om de symptomen van het carcinoïd-syndroom te doen verdwijnen (169).

Methysergide:

Methysergide (1-methyl-D-lysergzuurbutanolamide) is een verbinding van methylergonovine en LSD. Methysergide in zeer lage dosering (10^{-9} M) remt zeer sterk, maar niet competitief, de contracties van de geïsoleerde rattemaag op serotonine. Ook op geïsoleerde vaten is methysergide een krachtige blokker van de door serotonine, maar niet door noradrenaline, geïnduceerde vasoconstrictie (22, 272, 370). Methysergide intraveneus gegeven aan genarcotiseerde honden en spontaan hypertensieve ratten verlaagt de bloeddruk door daling van de totale perifere vaatweerstand. Deze weerstands daling wordt niet veroorzaakt door perifere α -adrenerge blokkade of ganglionblokkade maar is het gevolg van centrale remming van de sympaticus (17-19). De stof remt ook de door bilaterale carotis occlusie geïnduceerde hypertensie. Methysergide heeft wellicht ook partieel agonistische werking gezien de vasoconstrictie in de arteria carotis bij de hond en de ratte-aorta (336, 337, 411).

Methysergide bindt zowel aan de 5-HT₂- als de 5-HT₁- bindingsplaats (K_i respectievelijk 12 en $100 \cdot 10^{-9}$ M), veel minder aan dopaminerge receptoren en vrijwel niet aan α -adrenerge receptoren (236).

Methysergide-maleaat (Sansert®) is toegepast bij vasculaire hoofdpijn zoals migraine en het syndroom van Horton (104). Waarschijnlijk berust de anti-migraineuze werking op het induceren van vasoconstrictie van het intra- en extracerebrale vaatbed (336). De stof is verder met succes toegepast bij symptoombestrijding van het carcinoïd syndroom en het postgastrectomie dumping syndroom (104). De bijwerkingen lijken vooral te liggen op het vlak van serotonine-agonistische activiteit: verergering van perifere circulatie stoornissen, provocatie van angina pectoris en het optreden van retroperitoneale, pulmonale en endocardiale fibrose (163, 104). De vasculaire effecten

van methysergide kunnen verklaard worden door 5-HT₂-receptorbezetting.

Dihydro-ergotamine:

Dihydro-ergotamine (DHE) is een veel minder potente serotonine antagonist op de ratte uterus en op de geïsoleerde vaten. In concentraties van 10⁻⁷ M geeft DHE vasoconstrictie en in concentraties van 10⁻⁹M vaatverwijding door niet-competitieve serotonerge én α -adrenerge blokkade in de arteria carotis van de hond. De mate van selectiviteit voor serotonerge receptoractivatie blijkt o.a. afhankelijk van het bestudeerde vaatbed te zijn. Op de arteria basilaris, arteria carotis externa en arteria coronaria van de hond is vrijwel alleen serotonerge blokkade aantoonbaar in tegenstelling tot de vena saphena van hetzelfde dier (272). Voor een overzicht van de verschillende ergotpeptidenpreparaten wordt verwezen naar het overzichtsartikel van Müller-Schweinitzer (273).

Dihydro-ergotamine bindt zowel aan 5-HT₁- als 5-HT₂- bindingsplaatsen alsmede aan α -adrenerge receptoren. Een racemisch mengsel van drie peptiden (Hydergine[®]) wordt wel toegepast bij perifere en cerebrale doorbloedingsstoornissen. Het mogelijk vaatverwijdend effect kan zowel door 5-HT₁-activatie, 5-HT₂-blokkade als α -adrenerge blokkade verklaard worden.

Dihydro-ergotamine (pizotifen, Sandomigran[®]) wordt toegepast als profylacticum bij migraine.

3.3.2.2. Indolderivaten

De stoffen die de indolring met serotonine gemeen hebben, kunnen ook serotonerge receptoren bezetten (31). Van deze stoffen zijn tryptamine, 1-benzyl-2-methyl-5-methoxytryptamine (BAS) en bufotenine de meest bekende voorbeelden. Tryptamine en bufotenine binden voornamelijk aan de 5-HT₁-receptor en in mindere mate aan de 5-HT₂-receptor (359). Deze stoffen bezitten vooral serotonerge agonistische eigenschappen en worden niet toegepast als serotonine-antagonisten. Het tryptaminederivaat BAS is een partiële serotonerge agonist en antagonist. Aangemoedigd door ervaringen bij dierexperimenten is BAS toegepast bij de behandeling van symptomen ten gevolge van carcinoïdtumor en bij behandeling van essentiële hypertensie. De toediening van BAS ging echter gepaard met ernstige centrale symptomen (169, 418, 419).

3.3.2.3. Antihistaminica

De opvallende structuurovereenkomst tussen histamine en serotonine gaf de impuls om antihistaminica in te zetten als serotonine antagonisten. Met name uit de groep van de H₁-blokkers, bleken de ethyleendiamines en de phenothiazines serotonerge blokkade *in vitro* te kunnen bewerkstelligen. Echter de effecten *in vivo* die door serotonine gemedieerd lijken, zoals bronchoconstrictie en oedeemvorming, werden niet door deze stoffen geremd (104, 169).

Cyproheptadine:

Dit is een zwakke histamine antagonist, maar een zeer sterke serotonine antagonist, die de *in vitro* effecten van serotonine op de gladde spiercellen van vaten en darm remt. De stof heeft een hoge affiniteit voor 5-HT₂-receptor (Ki 0,44.10⁻⁹M) en een lage affiniteit voor de 5-HT₁-receptor, H₁-receptor, α₁-adrenoreceptor en dopaminereceptor (zie 236). De blokkade van de door serotonine veroorzaakte vasoconstrictie in geïsoleerde vaten is derhalve te verklaren door 5-HT₂-receptorblokkade (222).

Cyproheptadine verlaagt de bloeddruk bij intacte ratten en honden en bij gepende ratten (17, 19). Bij de mens toegepast (cyproheptadine-hydrochloride, Periactin®) remt cyproheptadine de symptomen van diarree bij carcinoïd syndroom en bij dumping syndroom (104). Op grond van remmende effecten op de secretie van hypofyse voorkwabhormonen is cyproheptadine ook toegepast bij de behandeling van het syndroom van Nelson en de ziekte van Cushing. Recent is aangetoond dat cyproheptadine de aldosteronsecretie bij idiopathisch hyperaldosteronisme kan remmen, hetzij door een centraal effect, hetzij door effecten op de bijnier (24, 166). Toediening van cyproheptadine bij de mens gaat gepaard met neveneffecten zoals sedatie en droge mond. Deze neveneffecten zijn waarschijnlijk toe te schrijven aan de histaminerge blokkade.

3.3.2.4. Phenothiazines

Chloorpromazine is een antihistaminicum uit de phenothiazine groep en blijkt *in vitro* een krachtige serotonine-antagonist op de geïsoleerde ratteuterus en de geperfundeerde oorarterie van het konijn. De *in vivo* experimenten tonen een minder sterk antagonisme, hoewel de stof effectief de symptomen tengevolge van het carcinoïd tumor bestrijdt. In het intacte proefdier geeft chloorpromazine evidente centrale serotonerge blokkade.

Het door 5-hydroxytryptofaan opgewekte agitatiesyndroom bij muizen en ratten kan worden geblokkeerd door chloorpromazine (169). De affiniteit voor de 5-HT₂-receptorbindingsplaats is zwak.

3.3.2.5. Adrenerge receptorblokkers

Uit deze groep is van phentolamine, phenoxybenzamine (α -1 en α -2 adrenerge antagonist) en yohimbine (α -2 adrenerge antagonist) serotonerge blokkade beschreven. Phentolamine en phenoxybenzamine zijn antagonist van serotonine voor wat betreft de effecten op geïsoleerde organen zoals uterus, duodenum, colon en ileum van de rat en het Guinees biggetje (140, 169), alsmede voor de effecten op de geïsoleerde aorta en arteria renalis (272). Wat betreft de remming van gladde spieren uit het ileum lijkt de oorspronkelijk getypeerde D-receptor het meest te lijken op de 5-HT₂-receptor. Phentolamine bindt zwak aan de ³H-ketanserin gelabelde receptor (K_i 2.10⁻⁷ M). Het antihypertensieve effect van phentolamine en phenoxybenzamine wordt derhalve vooral toegeschreven aan de α -adrenerge blokkade.

3.3.2.6. Morfines

De stoffen die de oorspronkelijke M-receptor bezetten (morfines en anticholinergica) worden hier buiten beschouwing gelaten. De M-receptor is niet te categoriseren als 5-HT₁- of 5-HT₂-receptor; apomorfine heeft voor beide receptorbindingsplaatsen een K_i > 10⁻⁴ M. Atropine en morfine hebben geen aantoonbare antagonistische werking op geïsoleerde vaten na serotoninetoediening. De cardiale serotonerge receptor die lijkt op de M-receptor is geen 5-HT₁- noch een 5-HT₂-receptor, en wordt derhalve 5-HT₃-receptor genoemd (48, 133, 160, 213).

3.3.3. Recent ontwikkelde serotonine antagonist

Mianserin:

Dit tetracyclisch antidepressivum bindt zowel aan 5-HT₂- als 5-HT₁ receptoren. Toegediend aan honden geeft deze stof bloeddruk daling wellicht door serotonerge blokkade (60, 112).

Spiroperidol:

Dit is een dopamine antagonist met een zeer hoge affiniteit voor 5-HT₂-bindingsplaatsen (K_i 10⁻⁹ M) en wel in gebieden die arm zijn aan dopaminerge receptoren. De stof kon derhalve als label gebruikt worden voor serotonerge receptoren (235, 294). Er bleek voor deze stof (alsmede voor methergoline, cinanserin, benzperidol en haloperidol) een goede correlatie te bestaan tussen de remming van het effect van serotonine op de staarterie en de affiniteit voor de 5-HT₂-receptor (zie 236).

Ketanserin:

Deze stof werd voor het eerst in 1977 toegepast in een onderzoek naar farmaca die de maaglaesies veroorzaakt door serotonine, afkomstig uit mestcellen, zouden kunnen voorkomen. Alleen hoge doses van α -adrenerge antagonisten, dopaminerge antagonisten en histaminerge antagonisten (in concentraties die serotonerge blokkade geven) alsmede serotonine antagonisten (cyproheptadine, methysergide) bleken daartoe in staat (402). Een nieuwe stof, (3-(2-(4-14-fluorobenzyl)-1-diperinydyl)-ethyl)-2,4(1H,3H)-quinazoline bleek in dit model zeer potent met een ED₅₀ van 0,15 mg/kg (27, 402). Deze stof, ketanserin genaamd, bleek bij ratten de door tryptamine geïnduceerde excitatie niet of nauwelijks te remmen en geen LSD-achtig syndroom te induceren, wat er op wijst dat ketanserin vrij zou zijn van centrale- en agonistische activiteit. *In vitro* bleek ketanserin de door serotonine geïnduceerde contracties van de arteria caudalis van de rat, en de arteria basilaris, arteria carotis, arteria coronaria, arteria mesenterica en vena saphena van de hond te remmen (295, 393). Het amplificerende effect van serotonine werd door ketanserin te niet gedaan.

Ketanserin heeft een hoge affiniteit voor 5-HT₂-receptoren (K_i 0,39. 10⁻⁹M) en vrijwel geen affiniteit voor 5-HT₁-receptoren (K_i >10⁻⁶M); echter de stof bezit ook een affiniteit voor α_1 -adrenerge receptoren (K_i 10⁻⁸ M) en histaminerge-1 receptoren (K_i 10⁻⁸ M). De affiniteit voor dopaminerge receptoren is nihil (234). Recent zijn nog een aantal stoffen gesynthetiseerd die wellicht specifiek zijn voor de 5-HT₂-receptor, zoals altanserin, ritanserin en seroperon (202). Ketanserin 0,15 mg/kg intraveneus geeft bij de normotensieve en spontaan hypertensieve rat een duidelijke bloeddrukdaling (393).

Derhalve was het niet onlogisch om deze stof als vaatverwijder toe te passen bij vasculaire ziektebeelden waar vasoconstrictie op de voorgrond staat, zoals essentiële hypertensie. In een poging om de rol van serotonine bij essentiële hypertensie bij de mens te bestuderen maakten wij gebruik van de 5-HT₂-receptor-antagonist ketanserin.

3.4. Samenvatting

Aanvankelijk werden serotonine receptoren ingedeeld in D- en M-receptoren op grond van remming van effecten op serotonine op het ileum door respectievelijk dibenylamine en morfine. Studies met behulp van radioligandbindingen met ^3H -LSD, ^3H -serotonine en ^3H -spiroperidol leverden een nieuwe classificatie van serotonine receptoren op t.w. 5-HT_1 , 5-HT_2 en 5-HT_3 receptoren.

De 5-HT_1 receptoren worden weer onderverdeeld in 5-HT_{1A} , 5-HT_{1B} - en 5-HT_{1C} -receptoren. De 5-HT_1 receptoren worden aangetroffen in het centrale zenuwstelsel, waar zij betrokken zijn bij het ontstaan van het zgn. serotonine-excitatie syndroom. Buiten het centrale zenuwstelsel zijn 5-HT_1 receptoren gelokaliseerd op sympatische- en presympatische zenuwuiteinden in vaatwand en ileum. Activatie van deze 5-HT_1 receptoren wordt gevolgd door een remming van neurotransmitter release. De vaatverwijdende effecten van serotonine kunnen door 5-HT_1 receptor activatie verklaard worden.

De 5-HT_2 receptoren zijn gelokaliseerd in de cortex cerebri, ruggemerg, gladde spiercellen van vaten en ileum en op trombocyten. De effecten, gemedieerd door de 5-HT_2 receptor, zijn gedetailleerd bestudeerd omdat er meer selectieve 5-HT_2 antagonisten dan 5-HT_1 antagonisten beschikbaar zijn. De vasoconstrictie volgend op serotoninetoediening alsmede het amplificerende effect van serotonine op vasoconstrictie door andere vasopressoren wordt gemedieerd door 5-HT_2 receptor activatie. De 5-HT_2 receptor op de trombocytmembraan speelt een belangrijke rol bij vormverandering en aggregatie volgend op serotoninetoediening. Op cellulair niveau wordt 5-HT_2 receptor activatie gevolgd door een toename van de fosfatide-inositol turnover.

De 5-HT_3 receptor lijkt gelokaliseerd te zijn op perifere sympatische en parasympatische zenuwvezels en is waarschijnlijk identiek met de "klassieke" M-receptor. De effecten van serotonine op het hart en de tractus digestivus worden wellicht door de 5-HT_3 receptor gemedieerd.

De zogenaamde klassieke serotonine antagonisten, zoals LSD en methysergide, blijken aselectieve 5-HT_1 en 5-HT_2 receptor antagonisten te zijn met partieel agonistische activiteit, waardoor deze stoffen farmacologisch en klinisch van weinig belang zijn. Recent zijn meer selectieve en meer specifieke 5-HT_2 receptor antagonisten ontwikkeld, waarvan ketanserin een voorbeeld is. *In vitro* blijkt ketanserin de door serotonine geïnduceerde of geamplificeerde vasoconstrictie te kunnen remmen d.m.v. 5-HT_2 receptor blokkade. Uitgaande van de farmacologische eigenschappen van ketanserin lijkt de stof geschikt om de rol van serotonine bij essentiële hypertensie bij de mens te bestuderen.

Hoofdstuk 4

Acute effecten van ketanserine intraveneus

Studies bij patiënten met essentiële hypertensie, patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van respiratoire insufficiëntie en bij patiënten met autonome insufficiëntie.

4.1. Inleiding

In 1977 wordt voor het eerst ketanserine (R 41468, Janssen Pharmaceutica, Beerse België), beschreven, een quinazolinederivaat met serotonine antagonistische eigenschappen (402). Met behulp van radioligandbindingsexperimenten werd aangetoond dat ketanserine selectief de 5-HT₂-receptor bezet en in mindere mate bindt met de α_1 -adrenerge en H₁-histaminerge receptor. *In vitro* studies met verschillende vaatsegmenten van de rat en hond toonden aan, dat ketanserine de door serotonine geïnduceerde vasoconstrictie remt. Ook het zogenaamde amplificerende effect van serotonine op andere vasoactieve stoffen kon door ketanserine worden geremd. Gebruik makend van geperfundeerde maag-darmpreparaten bleek ketanserine het vaatverwijdend effect van serotonine niet te remmen (250, 393). In het *in vivo* diermodel bleek ketanserine bij de normotensieve rat (134, 261, 279), de spontaan hypertensieve rat (134, 205, 261, 393), de gepende rat (162, 207), het konijn (41), de hond (88, 276, 277) en het schaap (430) een duidelijke bloeddrukdaling te geven.

De hartfrequentierespons was zeer wisselend: stijging bij de spontaan hypertensieve en gepende rat en daling bij de normotensieve of genarcotiseerde rat.

Bij grotere dieren (hond en konijn) bleek de bloeddrukdaling door ketanserine bewerkstelligd te worden door een daling van de systeemvaatweerstand (41, 277).

De eerste waarnemingen bij patiënten zijn gedaan door de groep van De Cree in 1981. Bij een oudere populatie van hypertensieve patiënten, die reeds behandeld werd met andere hypertensieve therapie, gaf ketanserine 10 mg intraveneus een duidelijk systolische en diastolische bloeddrukdaling (93, 94). Bij twaalf patiënten met onbehandelde essentiële hypertensie werden de effecten van 10 mg ketanserine i.v. uitvoerig bestudeerd (414). De bloeddruk daalde met 16 procent vrijwel direct na de injectie en dit effect hield minstens 2 uur aan. De hartfrequentie steeg met 10 slagen/min. Ook bij normotensieve personen bleek ketanserine (10-30 mg i.v.) een, zij het gering, bloeddrukdalend effect te hebben (119, 321). Bij patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van hartfalen deed ketanserine zowel de arteriële druk als de pulmonale arteriële druk dalen (100). Wenting (414, 415) toonde aan dat ook bij hypertensieve patiënten met een normale hartfunctie een daling in de pulmonale druk volgde op ketanserine toediening.

Naar aanleiding van onze eerste ervaringen met ketanserine (414, 415) werden de effecten uitvoeriger bestudeerd bij een groter aantal patiënten met essentiële hypertensie.

Tevens werden de effecten bij patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van respiratoire insufficiëntie na gegaan. Om een indruk te krijgen over de rol van serotonine bij het instand houden van de bloeddruk bij patiënten met orthostatische hypotensie werden ook de effecten bij vier patiënten met autonome insufficiëntie bestudeerd.

Een aantal gegevens zijn ontleend aan studies die reeds elders gepubliceerd zijn (414, 415, 417).

4.2. Patiënten

4.2.1. Patiënten met essentiële hypertensie

Bij 38 patiënten werd de acute bloeddrukrespons op een standaard dosering van ketanserine intraveneus bestudeerd. De gemiddelde leeftijd van deze groep (29 mannen, 9 vrouwen) bedroeg 54 ± 2 jaar (gemiddelde \pm standaardfout) met een spreiding van 33 - 77 jaar. Van deze groep werd bij een twintigtal patiënten (14 mannen en 6 vrouwen) met een gemiddelde leeftijd van 56 ± 3 jaar de bloeddrukrespons gedurende 2 uur vervolgd. Bij 12 patiënten (uit de groep van 20), te weten 8 mannen en 4 vrouwen, 59 ± 4 jaar, werden meer uitvoerige studies verricht. Tenslotte werd bij een kleinere groep van 8 patiënten (7 mannen en 1 vrouw) met de leeftijd van 57 ± 3 jaar, tevens perifere haemodynamische veranderingen gemeten.

Alle patiënten hadden essentiële hypertensie, bevestigd door lichamelijk onderzoek, routine laboratoriumonderzoek, intraveneuze pyelografie of re-

nale scintigrafie (^{99}Tc -DTPA) en bij sommigen tevens door angiografie

Zonder uitzondering waren alle patiënten tenminste drie weken onbehandeld voordat de studie aanving.

Van de patiënten werd, na uitleg van het doel van de studie, toestemming verkregen. De Medisch Ethische Commissie verleende toestemming voor de studies.

4.2.2. Patiënten met pulmonale hypertensie en respiratoire insufficiëntie

Zes patiënten, 5 mannen en 1 vrouw met een gemiddelde leeftijd van 60 ± 8 jaar (24 tot 74 jaar) werden aan de intensive care unit aangeboden i.v.m. acute respiratoire insufficiëntie met een arteriële zuurstofspanning (PaO_2) < 55 mmHg. Bij deze patiënten werden de volgende diagnoses gesteld: pneumonie (3), peritonitis (2), cholangitis (1).

Bij 4 patiënten was kunstmatige beademing noodzakelijk om een adequate zuurstofspanning in het bloed ($\text{PaO}_2 > 70$ mmHg) te verkrijgen. De overige patiënten werden met 40 procent tot 60 procent zuurstof over een kapje beademd. Bij drie patiënten was röntgenologisch sprake van een adult respiratory distress syndroom (ARDS), en bestonden tekenen van diffuse intravasale stolling (verlaagd aantal trombocyten en verhoogd gehalte fibrinogeen afbraakproducten). Bij deze drie patiënten was tevens sprake van shock, gekenmerkt door lage bloeddruk, perifere vasoconstrictie en verminderde diurese. Geen der patiënten werd behandeld met vasoactieve stoffen gedurende de studieperiode. Twee patiënten hadden een voorgeschiedenis van chronisch obstructief longlijden.

4.2.3. Patiënten met autonome insufficiëntie

Vier patiënten (3 vrouwen, 1 man, 40-67 jaar oud) met autonome insufficiëntie, zich presenterend als ernstige orthostatische hypotensie werden bestudeerd. Deze patiënten zijn uitvoerig beschreven door Man in 't Veld (255, 256). Twee patiënten leden aan idiopathische autonome neuropathie, 1 patiënt aan secundaire amyloidose (multiple myeloom) en 1 patiënt aan primaire hereditaire amyloidose. Geen van de patiënten had een aandoening van het centrale zenuwstelsel. De diagnose autonome insufficiëntie werd gesteld aan de hand van de volgende criteria:

(1) ernstige bloeddrukdaling bij kiepen met het hoofd omhoog tot 60° ("tilten") en

(2) afwezig zijn van de overshoot van de systolische bloeddruk (fase 4) na de Valsalva-manoeuvre.

Het plasma noradrenaline was verlaagd ($<20 - 135$ pg/ml) bij alle patiënten en steeg niet na "tilten", passend bij een efferente sympaticuslaesie. Geen der patiënten reageerde met hartfrequentiestijging op atropine intraveneus of "tilten", waarmee een efferente vaguslaesie aangetoond is. De patiënten leden dus aan een gecombineerde efferente sympaticus en efferente vaguslaesie.

De patiënten waren tenminste 2 weken onbehandeld voordat de studies aanvingen.

4.3. Methoden

4.3.1. Bloeddruk en hartfrequentie

De bloeddruk werd intra-arterieel gemeten via een kleine (20 gauge) polyethyleen catheter geplaatst in de arteria radialis. De druk werd geregistreerd via een P231D-Stadhamtransducer en continu uitgeschreven op een Hewlett-Packard multigraphrecorder. De transducer werd genuld op mid-thoracaal niveau tegen de buitenlucht en regelmatig geijkt. De bloeddrukcurve werd gevisualiseerd op een oscilloscoop (Hewlett-Packard HP 78205C) en de waarden voor systolische (SAP), diastolische (DAP) en geïntegreerde gemiddelde arteriële druk (MAP) werden digitaal uitgelezen. De hartfrequentie (HR) werd continu geregistreerd en uitgelezen via een ECG-signaal.

4.3.2. Centrale drukken en hartminuutvolume

Voor het monitoren van de centrale drukken en bepaling van het hartminuutvolume werd een 7-french-triple lumen Swan-Ganz catheter geplaatst via een punctie van de vena cubiti (patiënten met essentiële hypertensie) of punctie van de vena jugularis interna (patiënten met respiratoire insufficiëntie). De catheter werd naar een hoofdtak van de arteria pulmonalis gemanoeuvreerd, zodat de pulmonale arteriële druk (PAP), pulmonale wiggedruk (PCWP) en rechteratriumdruk (RAP) gemeten konden worden. De pulmonale arteriële druk werd eveneens continu geregistreerd zowel op de oscilloscoop als op de schrijver.

Het hartminuutvolume (cardiac output, CO), werd bepaald met behulp van de thermodilutie methode; 10 ml glucose 5 procent van $\pm 4^{\circ}\text{C}$ werd in 3 seconden toegediend, driemaal gedurende verschillende fasen van de

ademcyclus. De dilutiecurves werden geregistreerd en daarna werd de CO berekend door een computer (Edward's Laboratories, Santa Anna, USA.). Met behulp van de verkregen waarden konden de volgende variabelen worden afgeleid:

de totale perifere vaatweerstand (TPR, dyne.sec.cm⁻⁵) =

$$\frac{\text{MAP (mmHg)} - \text{RAP (mmHg)} \times 79,9}{\text{CO (L/min)}}$$

pulmonale vaatweerstand (PVR, dyne.sec.cm⁻⁵) =

$$\frac{\text{MPAP (mmHg)} - \text{PCWP (mmHg)} \times 79,9}{\text{CO (L/min)}}$$

$$\text{Slagvolume (SV,ml)} = \frac{\text{CO (ml/min)}}{\text{HR (sl/min)}}$$

4.3.3. Nierfuncties

De glomerulaire filtratie snelheid (GFR) en de renale bloeddorstrooming (RPF) werden gemeten met behulp van infusieklaringsstudies via een korte catheter in een perifere armvene. De GFR werd berekend uit de klaring van ¹²⁵I-thalamaat. ¹³¹I-hippuran werd gebruikt voor het meten van RPF. Beide tracers werden tegelijkertijd toegediend in een 100 ml NaCl 0,9 procent oplossing met 200 microcuri ¹³¹I-hippuran en 50 microcuri ¹²⁵I-thalamaat. Voor een uitvoerige beschrijving van deze methode wordt verwezen naar eerdere studies (341). Na een oplaaddosis van 0,15-0,20 ml/kg lichaamsgewicht (overeenkomend met een pompsnelheid van 1 ml/minuut, gedurende 10 minuten) werd via een pomp 0,1 ml/minuut van de oplossing geïnfundeerd. Een equilibratieperiode van 120 minuten werd in acht genomen, waarna een eerste monster werd afgenomen.

Na toediening van ketanserin werd elke 30 minuten bloed afgenomen voor bepaling van de concentratie van de tracer.

De activiteit van ¹³¹I-hippuran en ¹²⁵I-thalamaat in 2 ml plasma werd bepaald met behulp van een gammacamera uitgerust met twee verschillende "windows". De bijdrage van ¹³¹I activiteit aan het telkanaal van ¹²⁵I werd achteraf gecorrigeerd.

Daar de extractie van ¹³¹I-hippuran door de nier niet volledig is (75 procent) werd een correctiefactor van 1,33 ingevoerd bij de berekening van de renale plasmaflow (341).

De renale bloeddorstrooming werd hierna berekend met behulp van de he-

matocriet:

$$\text{Renal Blood Flow (RBF)(ml/min)} = \frac{\text{RPF ml/min}}{1 - Ht}$$

4.3.4. Perifere haemodynamische metingen

De doorstroming van de onderarm inclusief de hand (forearm bloodflow, FAF) of aan de vinger (digital bloodflow) werd gemeten met behulp van veneuze occlusieplethysmographie (Periflow[®], Janssen Scientific Instruments, Beerse, België).

Gebruik werd gemaakt van silicone draadjes gevuld met kwik (mercury-in-strain-gauges) die om een goed gefixeerde onderarm of vinger werden bevestigd. De onderarm bevond zich op midthoracaal niveau, zodanig dat de veneuze druk ongeveer nul zou bedragen. De occlusieband werd proximaal van de kwiktouwtjes d.w.z. rond de bovenarm of rond de basis van de vinger gewikkeld en aangesloten op korte (kleiner dan 1 meter), wijde (diameter 3 cm) slangen, gekoppeld aan een 50 liter hoge druktank met een druk van 150 - 200 mmHg perslucht.

Getriggerd door de R-toppen van een ECG-sigitaal was de drukunit in staat om in 40 milliseconden een constante, met een variatie van minder dan 2 mmHg, vooraf ingestelde occlusiedruk (50 mmHg) op te leggen gedurende 3 hartslagen. Nadien volgden 2 hartslagen herstel waarbij de druk wegviel. Calibratie van de kwiktouwtjes in stappen van 0,1, 0,5 en 1 procent volumeverandering gebeurde automatisch door het elektronisch circuit en het geheugen van de straingaugeversterker. De interne elastische weerstand varieert lineair met de lengteverandering tot 50 procent van de initiële lengte (291).

De Periflow was tevens uitgerust met een contourcalculator, die de procentuele volumeveranderingen per tijd converteerde naar flowgegevens in ml per 100 ml weefsel per minuut. Daartoe werden de plethysmografische curves door een computer (JSI-06275, Janssen Scientific Instruments, Beerse, België) gedurende 30 seconden gesampeld en werd de procentuele volumeverandering gecorreleerd aan hartfrequentie en veneuze occlusietijd (97, 180).

Na een automatisch calibratiesigitaal van 20ml/100 ml/seconde werd de flowcurve op een x-y-recorder (Janssen Scientific Instruments) met een snelheid van 2½ cm/minuut grafisch weergegeven (zie figuur 4.1).

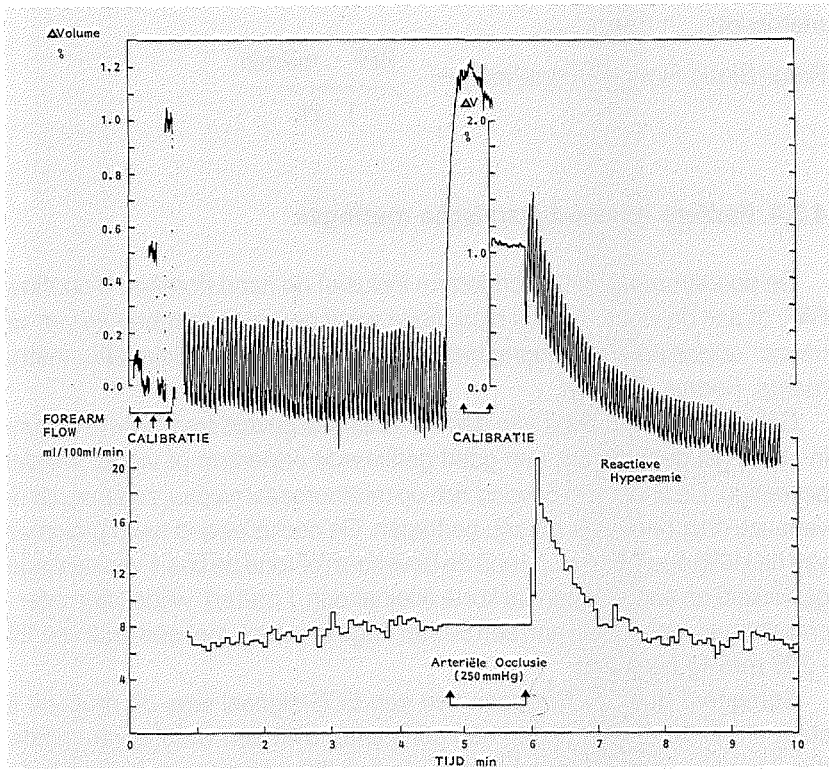


fig. 4.1. Een originele registratie van veranderingen in volume van de onderarm en berekende onderarmflow met behulp van veneuze occlusieplethysmografie.

Gebruikmakend van dezelfde opstelling kon ook de veneuze distensibiliteit bepaald worden. Daartoe werd de cuff gedurende langere tijd in opklimmende drukken (P) van 30 - 60 mmHg opgeblazen tot het volume niet meer toenam. Op dat punt was de veneuze druk gelijk aan de occlusiedruk en de veneuze distensie maximaal. Uit de percentuele volumeverandering (ΔV) bij verschillende occlusiedrukken kon de veneuze distensibiliteit (VD) berekend worden:

$$VD \text{ (ml/min)} = \frac{\Delta V_{p_1}(\text{ml}) - \Delta V_{p_2}(\text{ml})}{p_1(\text{mmHg}) - p_2(\text{mmHg})}$$

(301).

De patiënten werden onderzocht in een thermostabiele kamer (22 - 23 °C).

4.3.5. Huidtemperatuur

Gelijktijdig met de arm- en vingerflowmetingen werd de huidtemperatuur van voorhoofd en volaire zijde van de vingers 2, 3 en 5 gemeten (aan de niet-geoccludeerde zijde). Voor dit doel werden telethermistors op de huid bevestigd. De temperatuursveranderingen werden met een interval van 30 seconden uitgeschreven op een recorder.

4.3.6. Protocol en statistiek

Patiënten met essentiële hypertensie:

De studies werden klinisch verricht vanwege het invasieve en langerdurende karakter. Patiënten werden opgenomen op de interne afdeling. Drie tot vijf dagen na opname bleek de groep in zout- en kalium balans te zijn door dagelijks 24 uren urine excretie van natrium en kalium te vervolgen bij een dieet dat 50 - 80 mmol natrium en 70 - 100 mmol kalium per dag bevatte. De onderzoeken werden verricht in een rustige en temperatuurstabiele kamer. De patiënten hadden bedrust vanaf de voorafgaande nacht en hadden een licht ontbijt gebruikt. Na het plaatsten van de catheters werd een stabilisatieperiode van 2 uur in acht genomen (tegelijkertijd de equilibratieperiode voor de infusiekларingstechnieken ter bepaling van de nierfunctie). Na een observatieperiode van 30 minuten werd ketanserine, 10 mg opgelost in 20 ml NaCl 0,9 procent, in 2 minuten geïnjecteerd via de rechteratriumlijn van de Swan-Ganz catheter of een perifere vene. Vijf minuten na injectie en nadien elke 15 minuten werden de waarden voor de verschillende drukken genoteerd. Het hartminuutvolume werd 5,15 en 30 minuten na injectie bepaald en nadien elk half uur. Elke 30 minuten werd bloed via de arteriële lijn afgenomen voor bepaling van de verschillende parameters, waaronder voor berekening van de nierfuncties.

Patiënten met acute respiratoire insufficiëntie:

Bij deze patiënten werd een haemodynamische stabilisatie betracht met behulp van suppletie van volume. Gedurende de studieperiode met ketanserine werden geen veranderingen aangebracht in beademing of in volumetoediening. De observatieperiode bij deze patiënten was korter gezien het instabiele karakter van de toestand van deze patiënten. Gedurende de studieperiode van 2 uur werden vooral veranderingen in arteriële druk, pulmonale arteriële druk en hartminuutvolume gemeten.

Patiënten met autonome insufficiëntie:

Bij deze patiënten werden de effecten van ketanserin op kortere termijn (15 minuten) bestudeerd. De patiënten waren niet opgenomen in het ziekenhuis. Ze hadden een licht ontbijt gehad en pas na een stabilisatie periode van 2 uur werd ketanserin toegediend. Met frequente intervallen (5 minuten) werden bloeddruk en hartfrequentie genoteerd.

Statistiek:

De resultaten worden hier weergegeven als gemiddelden plus of min de standaardfout van het gemiddelde (\pm SEM). Voor statistische vergelijking werd gebruik gemaakt van de "student t-test" voor gepaarde en ongepaarde waarnemingen. Lineaire regressies werden berekend met behulp van een calculator. p-Waarden <0.05 werden als significant beschouwd.

4.4. Resultaten

4.4.1. Bloeddruk en hartfrequentie

In de groep van 38 patiënten met essentiële hypertensie gaf ketanserin een vrijwel onmiddellijke bloeddrukdaling van $36 \pm 5/18 \pm 2$ mmHg ($p < 0,001$, figuur 4.2). De hartfrequentie steeg slechts met 6 slagen per minuut

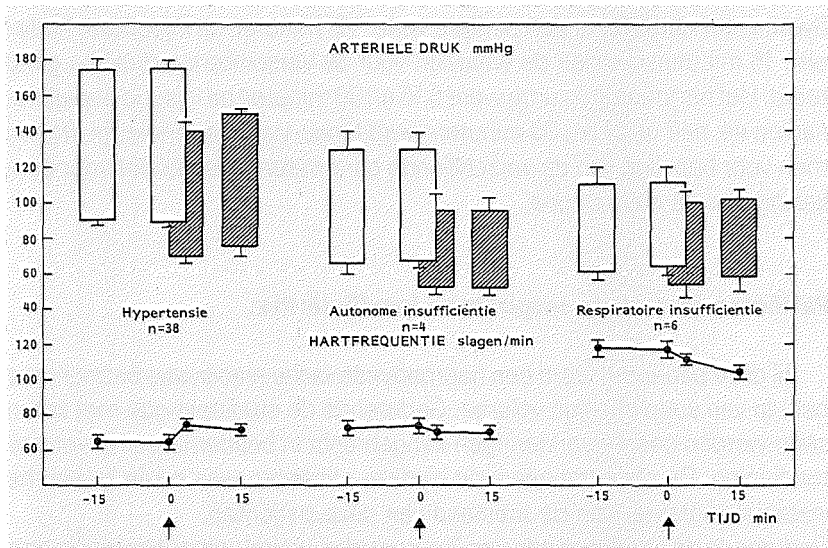


fig. 4.2. Effect van ketanserin (10 mg i.v.) op bloeddruk en hartfrequentie bij 3 groepen patiënten.

($< 0,01$). Ook bij de andere groepen patiënten werd vrijwel direct na ketanserin een bloeddrukdaling waargenomen. In de groep met respiratoire insufficiëntie bedroeg de percentuele bloeddrukdaling na 15 minuten -11 ± 3 procent, vergeleken met -16 ± 2 procent in de hypertensiegroep, en -21 ± 2 procent in de groep met autonome insufficiëntie.

Eén patiënt, een 72-jarige man met essentiële hypertensie ontwikkelde een ernstige symptomatische hypotensie en bradycardie, ongeveer 30 minuten na toediening van ketanserin. Deze hypotensie was goed te bestrijden met expansie van het plasmavolume.

Bij 20 patiënten met essentiële hypertensie werden bloeddruk en hartslag gedurende 2 uur gevolgd. De bloeddruk bleef gedurende de gehele observatieperiode onder de uitgangswaarden ($p < 0,05$ voor 1 en 2 uur na injectie), terwijl de hartfrequentie na 60 minuten vrijwel op de beginwaarde was teruggekeerd (figuur 4.3).

Uiteraard was er geen hartfrequentierespons bij de patiënten met de autonome insufficiëntie.

Opvallend was de hartfrequentiedaling bij de groep met respiratoire insufficiëntie (figuur 4.2).

In de totale groep van 38 patiënten met essentiële hypertensie bestond geen goede correlatie tussen leeftijd en percentuele bloeddrukdaling na 15

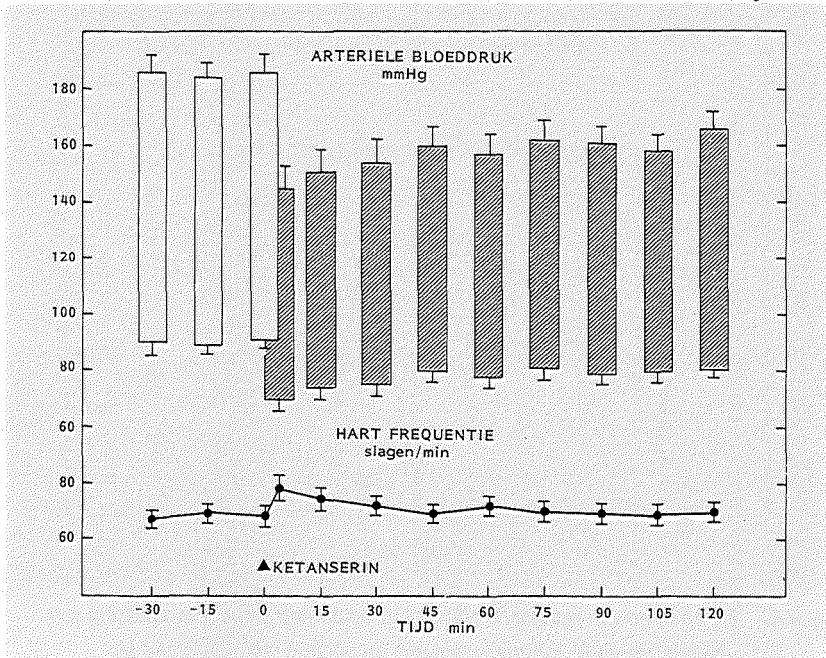


fig. 4.3. De effecten van ketanserin (10 mg i.v.) op bloeddruk en hartfrequentie bij 20 patiënten met essentiële hypertensie.

minuten ($y=48x + 0,38$; $r = 0,39$; $p>0,05$). Er bestond geen correlatie tussen de hoogte van de uitgangsbloeddruk en de percentuele bloeddrukdaling na 15 minuten ($r = 0,07$; $n = 38$).

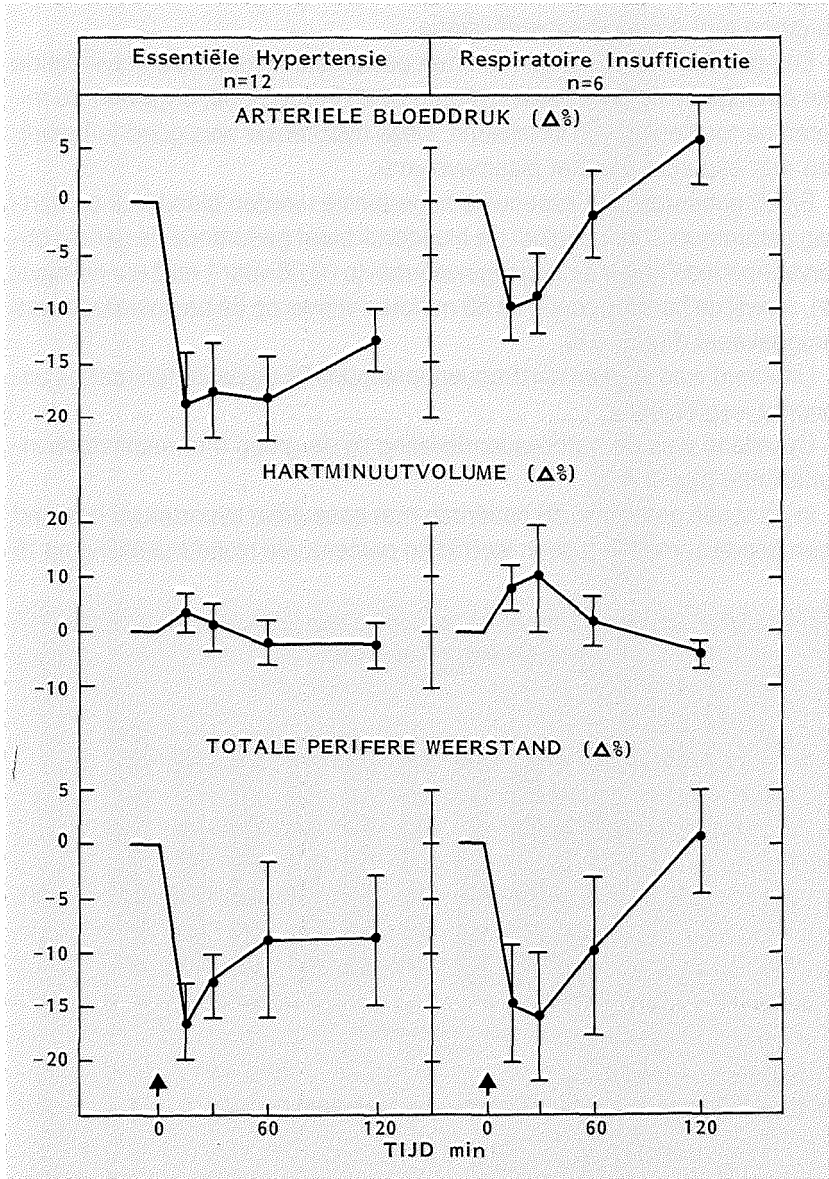


fig. 4.4. De effecten van ketanserin (10 mg i.v.) op de percentuele verandering van arteriële bloeddruk, hartminuutvolume en perifere vaatweerstand bij 12 patiënten met essentiële hypertensie en bij 6 patiënten met acute respiratoire insufficiëntie.

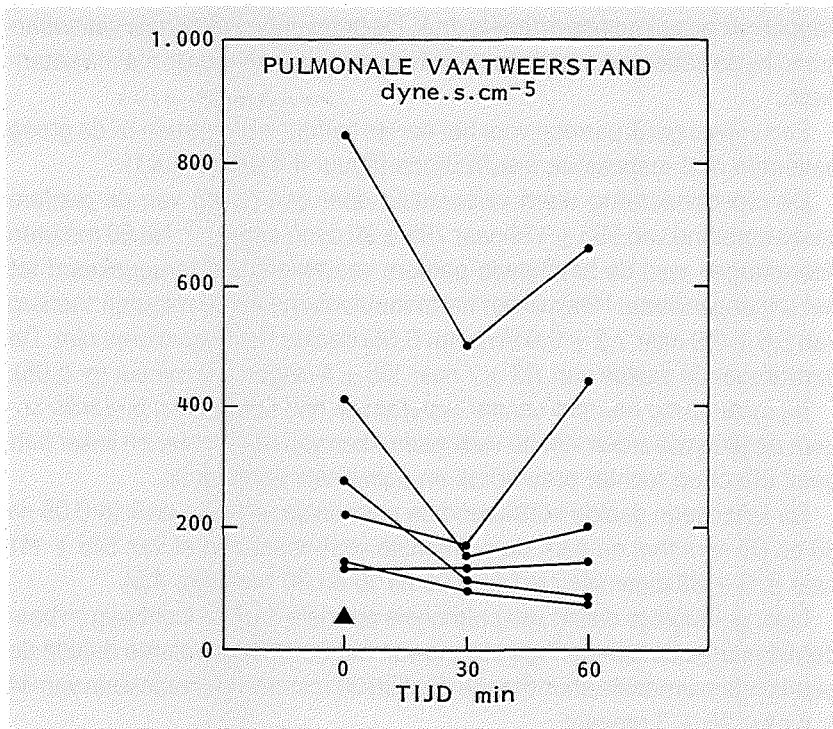


fig. 4.5. De verandering in de pulmonale vaatweerstand bij 6 patiënten met acute respiratoire insufficiëntie, na 10 mg ketanserin i.v.

4.4.2. Effecten op centrale drukken en hartminuutvolume

Bij de groep van patiënten met essentiële hypertensie ($n = 12$) steeg het hartminuutvolume 5 minuten na injectie van ketanserin van $5,2 \pm 0,4$ naar $5,6 \pm 0,4$ liter/minuut ($p < 0,01$). Reeds na 15 minuten was het hartminuutvolume gedaald tot de uitgangswaarde en na 90 en 120 minuten zelfs vermindert tot $4,9 \pm 0,4$ l/minuut ($p < 0,05$) (figuur 4.4).

De initiële bloeddrukdaling na 5 minuten bij deze patiënten van $188 \pm 6/90 \pm 5$ mmHg naar $159 \pm 9/75 \pm 6$ mmHg ($p < 0,001$) was het gevolg van een daling van de berekende perifere vaatweerstand van 2017 ± 143 naar 1640 ± 150 dyne.sec.cm⁻⁵. Gedurende de gehele periode van 2 uur bleef de perifere vaatweerstand verlaagd tot 1752 ± 158 dyne.sec.cm⁻⁵ na 120 minuten ($p < 0,05$, figuur 4.4). Het SV veranderde initieel niet, maar daalde van 82 ± 6 ml voor ketanserin naar 73 ± 6 ml na 90 minuten ($p < 0,01$). Deze daling in hartminuutvolume en slagvolume na 90 minuten zijn te verklaren uit de effecten van ketanserin op vullingsdrukken van het hart (tabel 4.1).

Ketanserin veroorzaakte een daling van rechter atriumdruk, pulmonale

wiggedruk en pulmonale arteriële druk. De berekende pulmonale vaatweerstand bij de patiënten met essentiële hypertensie veranderde niet na ketanserin.

Een vrijwel gelijk patroon voor het eerste halfuur werd gezien bij de groep patiënten met respiratoire insufficiëntie (figuur 4.4 en tabel 4.1).

De bloeddrukdaling werd veroorzaakt door een daling van de perifere vaatweerstand van 993 ± 174 naar 785 ± 99 dyne.sec.cm⁻⁵. Na 60 minuten daarentegen was de berekende perifere vaatweerstand teruggekeerd tot het uitgangsniveau. Hoewel het hartminuutvolume na 30 minuten toenam van $6,6 \pm 0,9$ naar $7,2 \pm 0,9$ l/min ($p < 0,05$) daalde het slagvolume niet. De hartfrequentie daalde van 112 ± 7 naar 105 ± 4 slagen per minuut ($p < 0,05$).

Bij deze groep met pulmonale hypertensie had ketanserin, ondanks hogere uitgangswaarden van de vullingsdrukken van het rechter en linker hart geen effect op rechter atriumdruk en pulmonale wiggedruk.

Na ketanserin daalde kortdurend de pulmonale arteriële druk ($p < 0,05$ na 30 en 60 minuten) en nam de pulmonale vaatweerstand af van 515 ± 141 naar 370 ± 83 dyne.sec.cm⁻⁵ ($p < 0,05$ na 15 en 30 min) (fig. 4.5).

Door gelijktijdige daling van pulmonale arteriële druk en luchtweg (=beademings)druk en een geringe stijging van het hartminuutvolume daalde de berekende pulmonale shuntfractie (Qs/Qt) 30 minuten na ketanserin van 34 ± 4 naar 20 ± 3 procent.

Tabel 4.1 Effecten van ketanserin op zgn. centrale drukken bij 2 groepen patiënten

	Essentiële Hypertensie				Respiratoire insufficiëntie			
	0	30	60	120	0	30	60	120
Pulmonale arteriële druk (mm Hg)	11±2	9±2	8±1**	7±1**	36±6	31±5*	31±5*	31±6
Pulmonale capillaire wiggedruk (mm Hg)	4±1	2±1**	1±1**	0±1**	11±1	11±1	11±1	12±1
Rechter atriumdruk (mm Hg)	3±1	1±1*	1±1*	2±1	9±2	7±1	7±1	7±2

* $p < 0,05$ t.o.v. 0 minuten

** $p < 0,01$ t.o.v. 0 minuten

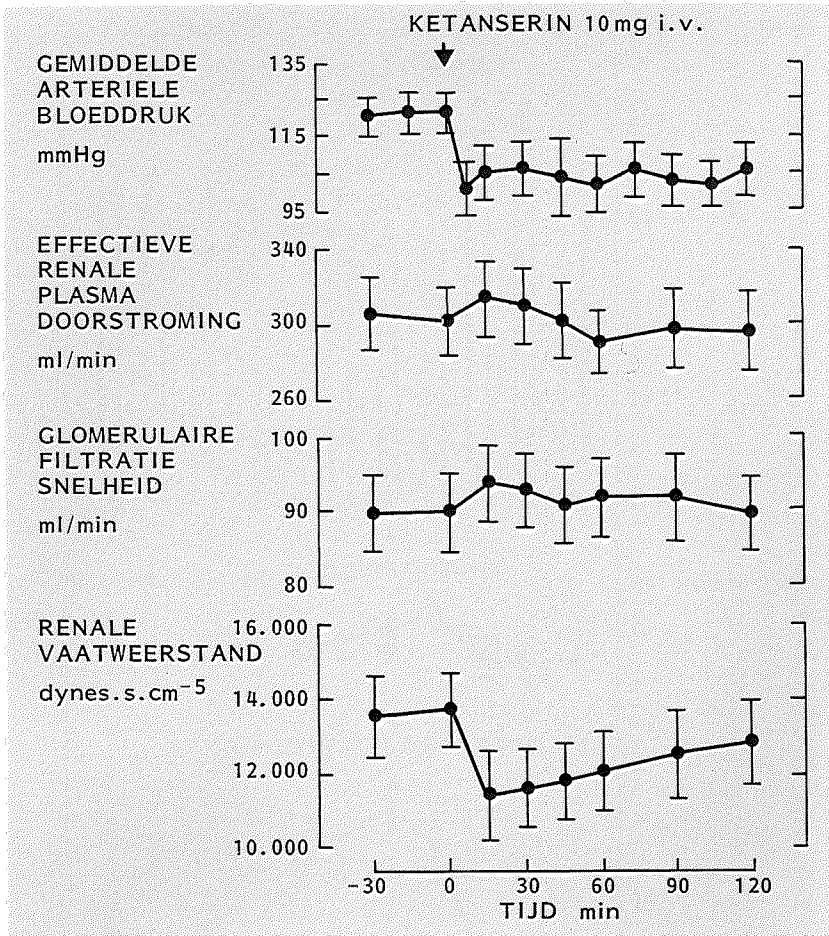


fig. 4.6. Effecten van ketanserin (10 mg i.v.) op de nierfunctie bij 12 patiënten met essentiële hypertensie.

4.4.3. Effecten op nierfunctie

De effecten van ketanserin op de verschillende parameters zijn weergegeven in figuur 4.6. Ondanks een daling van de gemiddelde arteriële druk met 17 ± 3 procent bij 12 patiënten met essentiële hypertensie werd de glomerulaire filtratiesnelheid niet gecompromiteerd. De renale bloeddoorstroming verslechterde niet, en nam zelfs initieel toe van 736 ± 44 ml/min tot 767 ± 51 ml/min na 15 minuten ($p < 0,05$). De berekende renale vaatweerstand daalde initieel met 15 ± 10 procent ($p < 0,01$). Deze weerstandsdaling hield aan tot 90 minuten na de injectie.

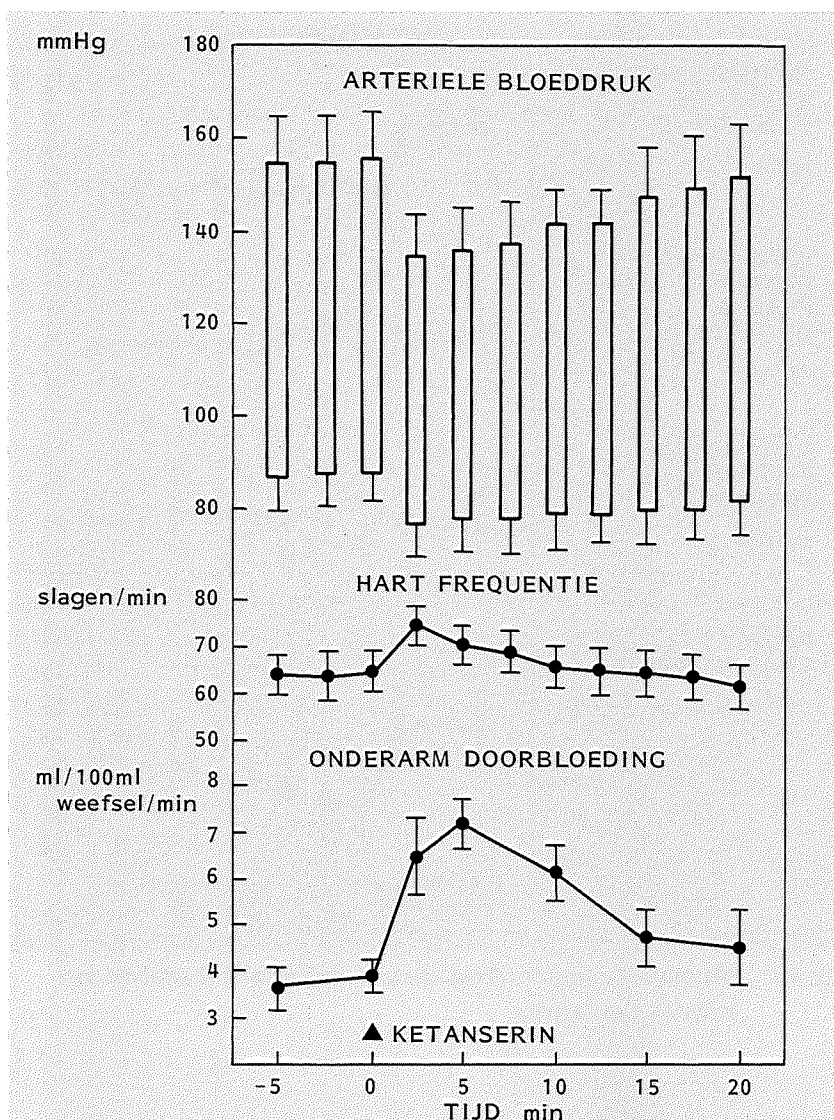


fig. 4.7. De effecten van ketanserin (10 mmg i.v.) op bloeddruk, hartfrequentie en onderarmdoorstroming bij 8 patiënten met essentiële hypertensie.

4.4.4. Effecten op perifere circulatie

Ook in de onderarm en vinger traden duidelijke veranderingen op. Reeds 5 minuten na injectie van ketanserin 10 mg was de onderarm flow (inclusief de hand) bij 8 patiënten met essentiële hypertensie bijna verdubbeld, van

3,7 ± 0,2 naar 6,3 ± 0,6 ml/100ml/min, maar het effect bleek van kortere duur dan de systemische effecten (figuur 4.7). Reeds na 20 minuten was de onderarmflow weer gedaald naar 4,5 ± 0,8 ml/100 ml weefsel/min.

Bij 4 patiënten met essentiële hypertensie werd ook de verandering in veneuze distensibiliteit van de onderarm bepaald. Deze nam na ketanserin toe van 3,9 ± 0,2 naar 6,7 ± 1,3 ml/mmHg ($p < 0,01$ na 5 minuten).

De gelijktijdig gemeten vingerhuidtemperatuur bij 8 patiënten met hypertensie nam toe van 31,3 ± 0,8 tot 33,2 ± 0,6 °C ($p < 0,05$). Dit effect hield 20 minuten aan.

4.5. Discussie

4.5.1. Bloeddruk en hartfrequentie

Ketanserin, 10 mg intraveneus, geeft bij patiënten met essentiële hypertensie, patiënten met een autonome insufficiëntie en bij patiënten met een acute respiratoire insufficiëntie een vrijwel onmiddellijke bloeddrukdaling van 11-21 procent. De absolute bloeddrukdaling was het grootst in de groep patiënten met essentiële hypertensie, hetgeen verklaard kan worden doordat de uitgangsbloeddruk in die groep veel hoger was dan de uitgangsbloeddrukken van patiënten met autonome insufficiëntie en respiratoire insufficiëntie. We konden echter geen correlatie aantonen tussen de percentuele bloeddrukdaling en de uitgangsbloeddruk en evenmin tussen bloeddrukdaling en leeftijd.

De gegevens verkregen bij 38 patiënten met hypertensie bevestigen onze eerdere waarnemingen (414, 415, 417) en komen goed overeen met de gegevens gepubliceerd door andere onderzoekers. De Cree et al. (93) vonden bij 23 oudere patiënten een bloeddrukdaling na 10 mg ketanserin i.v. van 17 procent. Deze door De Cree et al. behandelde patiënten gebruikten ook andere antihypertensieve medicatie, waaronder clonidine, waardoor een effect op de hartfrequentie gemaskeerd kon worden.

Bij 20 patiënten met ernstige en reeds behandelde hypertensie (187/121 mmHg) en nierschade daalde de bloeddruk na ketanserin met 15 procent (274). De hartfrequentie nam in deze groep nauwelijks toe, wellicht ten gevolge van de toegepaste comedicaatie.

Zabludowsky et al (431) vonden bij 9 onbehandelde patiënten met milde hypertensie (150/94 mmHg) een bloeddrukdaling na ketanserin van 10 procent.

Onze waarnemingen tonen aan dat ook bij onbehandelde patiënten de hartfrequentie maar in zeer geringe mate stijgt na ketanserin, ook bij een aanzienlijke bloeddrukdaling. Voor een gegeven bloeddrukdaling lijkt ketan-

serin minder reflex tachycardie te geven dan andere vaatverwijders zoals hydralazine en diazoxide (254). Er kunnen een aantal argumenten aangevoerd worden om deze geringere hartfrequentie stijging na ketanserin te verklaren.

(1) Beïnvloeding van de baroreflex door ketanserin:

De stijging van de hartfrequentie en hartminuutvolume na toediening van ketanserin is ongetwijfeld door de baroreflex gemedieerd, mede gezien de parallele stijging van het plasma noradrenaline (417). Op grond van daling van de vullingsdrukken van rechter- en linker harthelft, alsmede op grond van toename van de veneuze distensibiliteit van de onderarm door ketanserin, mag worden geconcludeerd dat de stof naast arteriële vaatverwijding ook het veneuze deel van de circulatie beïnvloedt. Al eerder werd bij toediening van bloeddrukverlagende middelen zowel met veneuze als arteriële vaatverwijdende eigenschappen opgemerkt, dat de te verwachten reflex tachycardie achterwege bleef. Dit is onder andere beschreven voor de α_1 -antagonist prazosine (335) en de ACE-remmer captopril (416). Aangenomen wordt dat veneuze vaatverwijding een deel van de bloeddrukdaling bewerkstelligt en dat de baroreflex hierbij minder geactiveerd wordt dan bij zuiver arteriële vaatverwijding. Verondersteld wordt dat receptoren in het veneuze deel van de circulatie hierbij een rol spelen. De geringe toename van de hartfrequentie bij de gegeven bloeddrukdaling na ketanserin zou dus verklaard kunnen worden door een minder krachtige baroreflexstimulatie, samenhangend met veronderstelde veneuze vaatverwijding.

Er zijn geen aanwijzingen dat ketanserin de baroreflex gevoeligheid beïnvloedt. Bij 6 patiënten met essentiële hypertensie testten wij de baroreflex gevoeligheid door middel van phenylephrine infusie (hoofdstuk 5). De baroreflex gevoeligheid werd door ketanserin niet beïnvloed; deze bedroeg $8,8 \pm 1,7$ millisecon/mmHg vóór ketanserin en $9,0 \pm 1,5$ millisecon/mmHg na ketanserin toediening.

Zabludowsky et al. (432) vonden geen verschil in hartfrequentie stijging ten gevolge van staan vóór en na ketanserin bij 9 patiënten met milde essentiële hypertensie.

(2) Centrale effecten van ketanserin:

Naar analogie van waarnemingen met de 5-HT₁ en 5-HT₂ antagonist methysergide bij de rat, waarbij bloeddrukdaling door centrale remming van de sympaticus aangetoond werd (17, 19) is een centraal bloeddrukverlagend mechanisme ook voor ketanserin gesuggereerd.

Bij de mens zijn weinig gegevens voorhanden over passage van ketanserin door de bloedhersen-barriere; de penetratie in het centrale zenuwstelsel schijnt gering te zijn (401). Wij konden bij onze patiënten geen duidelijke tekenen van centrale werking (in de zin van sedatie) vaststellen. Bovendien daalde de plasma noradrenalinespiegel niet na ketanserin toediening, het-

geen sterk tegen bloeddrukdaling door centrale remming van het noradrenerge systeem pleit. De verlaging van de hartfrequentie bij een gelijktijdige bloeddrukdaling door ketanserin in de groep patiënten met acute respiratoire insufficiëntie kan verklaard worden uit de vermindering van de sympatocotonus door bereiken van gunstiger haemodynamische en ventilatoire verhoudingen. Een centraal effect van ketanserin is niet geheel uitgesloten. Een aantal waarnemingen bij proefdieren waarbij ketanserin intracerebro-ventriculair of in de pons cerebri werd toegediend suggereren een centrale werking van ketanserin met name op de regulatie van de sympaticus activiteit (78, 134, 277). Bij normotensieve ratten gaf ketanserin 0,06-10 mg/kg i.v. een gelijktijdige hartfrequentie- en bloeddrukdaling te zien; een patroon compatibel met een centraal effect (78, 205, 296).

De daling of slechts geringe stijging van de hartfrequentie na ketanserin kan, in enkele diermodellen althans, verklaard worden door een centraal effect op de sympaticus activiteit.

(3) Negatief chronotrope effecten van ketanserin:

In het geïsoleerde rattehart vertraagt ketanserin (10^{-6} M) de hartactie (334). Ketanserin (10^{-7} M) toegevoegd aan perfusievloeistof rond de geïsoleerde papillairspier verlengt de duur van de actiepotentiaal met 30 procent (367). In de sinusknoop van de rat is een 5-HT_2 receptor aangetoond, die de noradrenaline vrijzetting bevordert. Ketanserin zou door bezetting van deze receptor de noradrenerge transmissie kunnen blokkeren. Bij de mens zijn geen aanwijzingen verkregen dat ketanserin de duur van de actiepotentiaal verlengt. Gedurende hartcatheterisatie met pacing en gedurende 24 uren hartfrequentie analyse werden bij patiënten met angina pectoris geen ritme- of geleidingsstoornissen waargenomen (408).

Bij normotensieve patiënten of vrijwilligers heeft ketanserin een gering bloeddrukdalend effect. Drie placebogecontroleerde studies bij normotensieve vrijwilligers tonen een bloeddrukdaling van 5-7 procent na injectie van 10 mg ketanserin i.v. (119, 321, 434).

Open studies met behulp van ketanserin gaven geen bloeddrukdaling bij gezonde vrijwilligers te zien (143, 321). Des te opmerkelijker is de 20 procent bloeddrukdaling bij de patiënten met de autonome insufficiëntie; vooral van belang is dat door deze waarneming aangetoond is dat ketanserin onafhankelijk van α_1 -blokkade in staat is de bloeddruk te verlagen (hoofdstuk 5).

De bloeddrukdaling van 11 procent na ketanserin bij patiënten met acute respiratoire insufficiëntie is vergelijkbaar met het effect op ketanserin bij 10 patiënten met ernstig hartfalen (100).

De uiteenlopende bevindingen bij normotensieve patiënten of personen kunnen niet verklaard worden door doseringsverschillen. Alle onderzoekers gebruikten een standaardoplossing van 10 mg ketanserin i.v., gevolgd door continue infusie, waarbij adequate ketanserinspiegels van 80-100 ng/ml

werden bereikt (321). Het is niet onmogelijk dat met behulp van continue intra-arteriële metingen, zoals door ons (414, 415) en anderen (100) verricht, meer evidente bloeddrukdalingen worden geregistreerd dan met behulp van onbloedige bloeddrukmeting. Het verschil in bloeddruk respons op intraveneus ketanserin tussen hypertensieve personen (15-20 procent) en normotensieve personen (5-10 procent) is geenszins in tegenspraak met de hypothese dat serotonine betrokken is bij het ontstaan of onderhouden van hypertensie. Het geringe effect van ketanserin bij gezonde vrijwilligers suggereert geen belangrijke rol van serotonine bij de regulatie van de bloeddruk bij de mens. Daarentegen suggereren waarnemingen bij de patiënten met autonome insufficiëntie dat in geval van afwezigheid van α -adrenerge tonus serotonine mede in staat kan zijn de bloeddruk bij deze patiënten te handhaven.

4.5.2. Centrale drukken, hartminuutvolume en vaatweerstand

Het bloeddrukverlagend effect van ketanserin bij patiënten met essentiële hypertensie wordt bereikt door vaatverwijding, gecombineerd met daling van het hartminuutvolume. De vaatverwijding kon bij onze patiënten aangetoond worden door daling van de totale perifere vaatweerstand, voor een deel veroorzaakt door daling van de onderarmsweerstand en de niervaatweerstand. De uiteindelijke daling van het hartminuutvolume is de resultante van (a) baroreflex gemedieerde cardiac output stijging en (b) verlaging van de cardiac output ten gevolge van daling van de vullingsdrukken van het hart. De effecten op zowel weerstands- als capaciteitsvaten suggereren zeer sterk een arteriële en veneuze vaatverwijding.

De excessieve toename van de onderarmsdoorstroming vergeleken met toename van het hartminuutvolume is te verklaren door een toename van de handdoorbloeding. Gezien de zeer geringe stijging van de vingerhuidtemperatuur met 2° C mag men aannemen dat vooral toename van de shunt-flow van de hand verantwoordelijk is voor de verdubbeling van de totale hand- en onderarmdoorstroming.

Onze gegevens komen overeen met de resultaten gevonden door andere onderzoekers. Bij 10 normotensieve vrijwilligers verhoogde ketanserin het hartminuutvolume met 0,7 l/min, gepaard gaande met een daling van bloeddruk en perifere vaatweerstand (120).

Bij patiënten met hypertensie tijdens aorta abdominalis chirurgie bleek 5-30 mg ketanserin i.v. de bloeddruk met 10-15 mmHg te doen dalen ten gevolge van een daling van de totale perifere vaatweerstand (344).

Bij patiënten met postoperatieve hypertensie na coronairchirurgie veroorzaakte ketanserin (10-100 mg i.v.) een bloeddrukdaling van 18 procent (380,

381). Het hartminuutvolume steeg met 0,5 l/min en de berekende perifere vaatweerstand daalde met 14 procent. In de aangehaalde studies deed ketanserin de rechter atriumdruk, linker atriumdruk en pulmonale arteriële druk dalen.

Bij 8 patiënten met ernstig hartfalen gaf ketanserin 10 mg i.v. een duidelijke haemodynamische verbetering: een 10 procent daling van de bloeddruk was geassocieerd met een 15 procent stijging van het hartminuutvolume, een 15-20 procent daling van de longvaatweerstand en systeemvaatweerstand en een 20-40 procent daling van de centrale drukken (100).

De vaatverwijdende eigenschappen van ketanserin zijn eveneens aangetoond in experimenten met proefdieren (hond, konijn) waarbij de arteriële vaatverwijding lijkt te overheersen (41, 42, 52, 429, 430).

In onze groep van patiënten met essentiële hypertensie veroorzaakte ketanserin ook vaatverwijding in de nier. Dit patroon is eveneens aangetoond bij het konijn, gebruikmakend van flowmeting met radioactieve microsferen (41). De combinatie van bloeddrukdaling en renale vaatverwijding, met handhaven van glomerulaire filtratie is een gunstig effect.

Bij 14 patiënten met ernstige renale hypertensie verslechterde de nierfunctie niet na bloeddrukdaling door ketanserin i.v. (274). Bij de rat remt ketanserin de door serotonine geïnduceerde vasoconstrictie in de nierarterie. In hoeverre serotonine betrokken is bij het ontstaan van renale of renovasculaire hypertensie is nog onduidelijk.

Bij de groep patiënten met acute respiratoire insufficiëntie, pulmonale hypertensie en ARDS, geassocieerd met toxisch infectieuze shock had ketanserin een gunstig effect op de pulmonale drukken en hartfrequentie. Ondanks een initieel lagere bloeddruk en systeemvaatweerstand en hoger hartminuutvolume (passend bij het toxische beeld) deed ketanserin 10 mg intraveneus de bloeddruk verder dalen door middel van daling van de perifere vaatweerstand. Het effect op de vullingsdrukken door ketanserin kon gemaskeerd worden door een gelijktijdige vochttoediening. Desondanks werd een daling van de pulmonale arteriële druk ten gevolge van een daling van de pulmonale vaatweerstand waargenomen. Deze gegevens komen goed overeen met die van andere groepen. Ketanserin 10 mg intraveneus toegediend aan 8 patiënten met acute respiratoire insufficiëntie werd gevolgd door een systemische bloeddrukdaling van 8 mm Hg, een pulmonale bloeddrukdaling van 3 mmHg ten gevolge van een daling in de berekende pulmonale vaatweerstand (405). Bij een uitgebreidere serie met 18 patiënten met acute respiratoire insufficiëntie, pulmonale hypertensie en verhoogde pulmonale shuntfractie gaf ketanserin infusie 10 procent daling van systemische en pulmonale bloeddrukken en beademingsdrukken. Met name bij patiënten met korter bestaande acute respiratoire insufficiëntie werd de pulmonale fysiologische shuntfractie verlaagd van 26 ± 3 naar $19 \pm$

3 procent (199), Het aantonen van een verhoogd trombocytenaantal in de pulmonale circulatie suggereert dat de pulmonale hypertensie en bronchoconstrictie geassocieerd met ARDS en acute respiratoire insufficiëntie een gevolg is van release van serotonine door trombocytenaggregaten in de long (199, 346).

Endotoxinaemie geeft aanleiding tot het ontstaan van plaatjesaggregatie en vastlopen van aggregaten in de long. Bij de hond kan de door E. Coli endotoxine geïnduceerde pulmonale hypertensie door ketanserin infusie teniet gedaan worden (11, 267). Onze eigen waarnemingen en die van anderen tonen aan dat bij patiënten met acute respiratoire insufficiëntie met pulmonale hypertensie ketanserin gunstige effecten kan bewerkstelligen in de zin van reduceren van pulmonale hypertensie (met vermindering van pulmonaal oedeem), reduceren van de bronchoconstrictie (en verlaging van beademingsdruk) en daardoor verbeteren van de fysiologische shuntfractie en zuurstoftransport. Naast andere vasoactieve mediators lijkt serotonine een rol te spelen bij het ontstaan van hemodynamische en pulmonale veranderingen ten gevolge van het ARDS.

4.6.Samenvatting

Ketanserin, 10 mg intraveneus, geeft bij patiënten met essentiële hypertensie, patiënten met autonome insufficiëntie, en patiënten met acute respiratoire insufficiëntie een vrijwel onmiddellijke bloeddrukdaling van 11-21 procent. Na toediening van ketanserin wordt een daling gezien van de totale perifere vaatweerstand, mede als gevolg van een aangetoonde weerstands-daling in nieren, onderarm en handen. Tevens worden de vullingsdrukken van de rechter en linker hart (en dientengevolge het hartminuutvolume) en de veneuze tonus aan de onderarm verlaagd. De bloeddrukdaling wordt dus veroorzaakt door een vaatverwijding van zowel het arteriële systeem en waarschijnlijk ook van het veneuze systeem.

Voor een gegeven bloeddrukdaling is de baroreflex gemedieerde hartfrequentiestijging na ketanserin minder sterk dan bij zuiver arteriële vaatverwijders. Naast zijn invloed op de capaciteitsvaten zijn negatieve chronotrope effecten of centrale beïnvloeding van de hartfrequentie door ketanserin niet uitgesloten. De baroreflexgevoeligheid wordt door ketanserin echter niet beïnvloed. Ondanks de bloeddrukdaling blijft de glomerulaire filtratiesnelheid gehandhaafd.

Er lijkt geen relatie te bestaan tussen uitgangsbloeddruk en de respons op ketanserin. Wel is een zwakke correlatie gevonden tussen leeftijd en bloeddrukrespons, waarbij de oudere patiënten een sterkere bloeddrukdaling tonen.

Op grond van de gemengde arteriële en veneuze vasodilatatie is ketanserine met succes toegepast bij hartfalen, bij postoperatieve hypertensie en bij pulmonale hypertensie ten gevolge van acute respiratoire insufficiëntie geassocieerd met sepsis en ARDS. Bij deze laatste groep heeft ketanserine een gunstig effect op haemodynamische en ventilatoire parameters.

Deze gegevens suggereren een rol voor serotonine bij het ontstaan of onderhouden van de verhoogde vaatweerstand zoals gezien wordt bij essentiële hypertensie.

Bij dit alles moet echter worden bedacht dat ketanserine niet specifiek is voor serotonerge receptoren en ook een, zij het geringere, α_1 -blokkerende werking heeft. Het feit dat ketanserine ook de bloeddruk verlaagt bij patiënten met ernstige orthostatische hypotensie ten gevolge van een perifere lesie van de sympaticus wijst erop dat althans een deel van de bloeddruk verlagende werking van ketanserine niet via α_1 -blokkade tot stand komt. Hierop zal in hoofdstuk 5 nader worden in gegaan.

Hoofdstuk 5

Het mechanisme van het bloeddrukverlagend effect ketanserin

5.1. Inleiding

Ketanserin bezit een sterke affiniteit voor de 5-HT₂ bindingsplaatsen en een zwakkere voor de α_1 -adrenerge bindingsplaatsen (zie hoofdstuk 3). Op grond hiervan was te voorspellen dat doseringen hoger dan noodzakelijk voor serotonerge blokkade (10^{-10} - 10^{-8} M) de vasoconstrictie geïnduceerd door noradrenaline, phenylephrine en methoxamine kunnen tegen gaan. Inderdaad werd dit aangetoond voor geïsoleerde vaatsegmenten van rat en hond (399). Ook *in vivo* bleek ketanserin in hoge doseringen (variërend van 0,0625-30 mg/kg lichaamsgewicht) intraveneus bij de normotensieve rat, de spontaan hypertensieve rat, de gepende rat en het hypertensieve konijn de pressor respons op adrenaline, noradrenaline en phenylephrine competitief te kunnen remmen (42, 134, 162, 261, 296). Bij de normotensieve rat kon een duidelijke correlatie tussen het acute bloeddrukverlagend effect van 12 serotonine-antagonisten, waaronder ketanserin (5 mmol/kg), en de affiniteit voor de α -adrenerge receptor worden aangetoond (208).

Het patroon van de haemodynamische effecten van ketanserin bij de hypertensieve mens wordt gekarakteriseerd door arteriulaire en waarschijnlijk ook veneuze vasodilatatie, begeleid door een geringe reflex tachycardie (zie hoofdstuk 4). Dit patroon doet sterk denken aan dat wat waargenomen wordt na toediening van de selectieve α_1 -adrenerge antagonist prazosine

(330, 335). De bindingsaffiniteit voor de α_1 -adrenerge receptor, de aange-
toonde α_1 -adrenerge blokkade door ketanserine in het diersmodel en de opval-
lende gelijkenis tussen de haemodynamische effecten van ketanserine en
prazosine bij de hypertensieve mens deed ons besluiten om bij onze patiën-
ten met essentiële hypertensie na te gaan of de bloeddrukdaling door ketan-
serine (10 mg intraveneus) verklaard kon worden uit α_1 -adrenerge blokkade.

5.2. Patiënten en methoden

5.2.1. Phenylephrine-injecties

Bij 7 patiënten met onbehandelde essentiële hypertensie, 6 mannen en 1
vrouw, 45 ± 4 jaar oud (38 tot 66 jaar), werd het effect van intraveneuze bolu-
sinjecties (-)-phenylephrine-hydrochloride bestudeerd. De patiënten wer-
den opgenomen op de interne afdeling en kregen een gestandaardiseerd
dieet (zie methoden hoofdstuk 4).

Na een stabilisatieperiode van een half uur na het plaatsen van een intra-
arteriële en intraveneuze catheter werden in willekeurige volgorde bolu-
sinjecties van 25 - 200 μg phenylephrine intraveneus toegediend en geflushed
met 5 ml NaCl 0,9 procent (53). Na 10 minuten, wanneer de bloeddruk en
hartfrequentie tot de uitgangswaarden waren teruggekeerd, werd de vol-
gende injectie gegeven. Na een eerste reeks phenylephrine toedieningen
werd ketanserine, 10 mg intraveneus in 2 minuten gevolgd door een continue
infusie van 2 mg per uur, toegediend. Ongeveer 15 minuten na de ketan-
serine-injectie werden de phenylephrinebolusinjecties herhaald.

Bij 5 van deze patiënten (5 mannen, 41 ± 2 jaar) werden de effecten van
phenylephrine-injecties, 25 - 1600 μg intraveneus, een derde maal bestu-
deerd, na behandeling met prazosine, 12 mg/dag gedurende 2 dagen (113),
60 tot 90 minuten na inname van de laatste dosis prazosine.

De bloeddruk werd intra-arterieel gemeten en tesamen met het ECG con-
tinue geschreven op een langzaam lopende (10 mm/min) 4-kanaalsschrijver.
Tevens werd een 2-kanaalsschrijver gebruikt, waarmee vanaf het moment
van toediening van phenylephrine gedurende 20 hartslagen met een papier-
nelheid van 100 mm/sec bloeddruk en ECG werden geregistreerd (300).
Voor elke dosis phenylephrine werd gedurende 20 hartslagen, de stijging in
systolische, diastolische en berekende gemiddelde bloeddruk, en de veran-
dering in RR-interval slag voor slag geanalyseerd met behulp van de conti-
nue registratie. Hieruit konden de maximale bloeddruk, en RR - intervalstij-
gingen op de verschillende doses phenylephrine, voor en na ketanserine en
na prazosine-toediening berekend worden en konden (log) dosisresponscur-
ves geconstrueerd worden (figuur 5.1.).

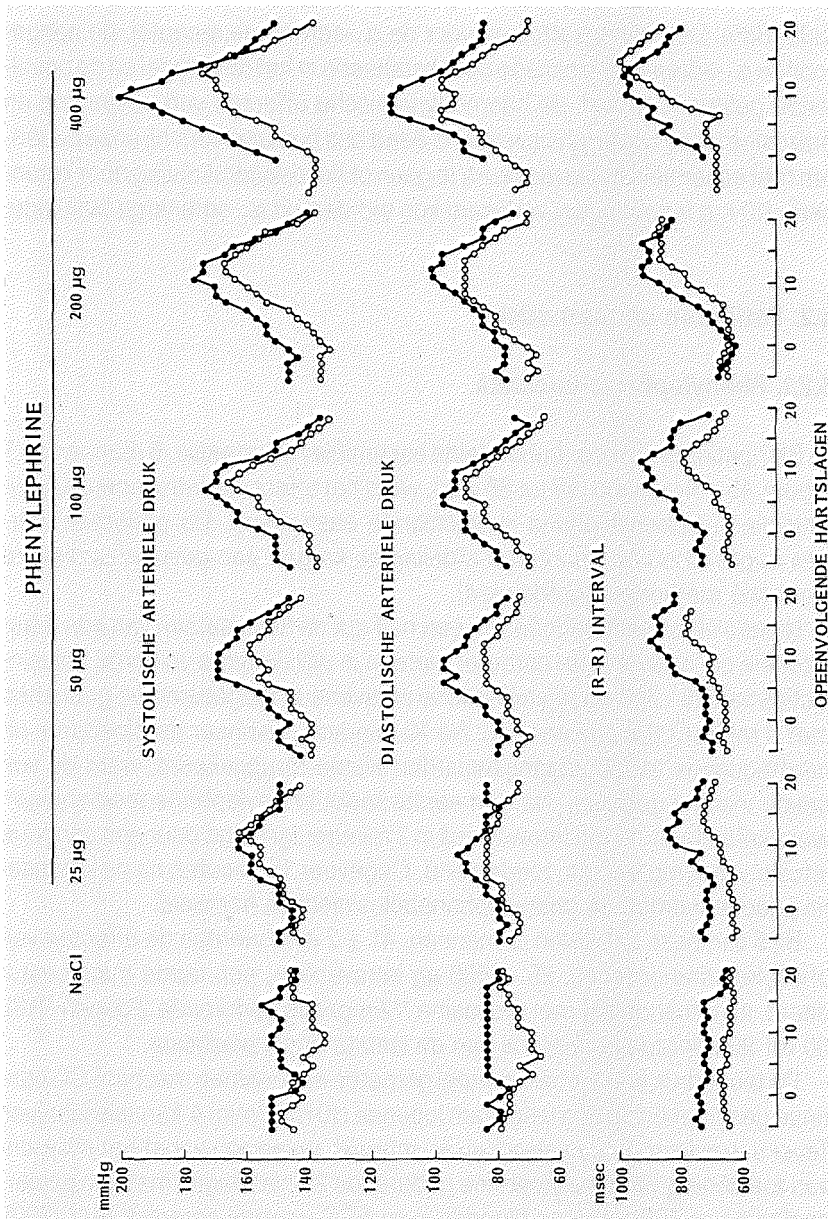


fig. 5.1. Een voorbeeld van een analyse van phenylephrineinfusie bij een patiënte met essentiële hypertensie, voor (gesloten punten) en tijdens (open punten) behandeling met ketanserin.

De baroreflexgevoeligheid werd berekend aan de hand van waarnemingen bij injecties met 100 en 200 μg phenylephrine, waarbij een systolische drukstijging van meer dan 25 mm Hg werd bereikt (53, 153, 300). De systolische druk werd uitgezet tegen het RR-interval van de volgende hartcyclus. De helling van de lijn, die de relatie tussen deze twee variabelen weergeeft, wordt als maat voor de gevoeligheid van de baroreflex beschouwd (300, 351).

5.2.2. Toediening van ketanserin na behandeling met diureticum of prazosine

Uit de groep van patiënten met essentiële hypertensie, bij wie in eerste instantie de effecten van intraveneuze toediening van ketanserin bestudeerd waren (zie hoofdstuk 4) werden 14 personen gerecruteerd voor een volgende studie. Zes patiënten, 4 mannen en 2 vrouwen, 45 ± 4 jaar (33 - 60 jaar) werden behandeld met een diureticum, te weten furosemide 40 mg/dag. Na één week behandeling werden de effecten van een tweede dosis ketanserin, 10 mg intraveneus, op bloeddruk en hartfrequentie bestudeerd. Acht patiënten, 7 mannen en 1 vrouw, 54 ± 5 jaar (38 - 74 jaar) werden behandeld met een α_1 -adrenerge blokker, te weten prazosine, in opklimmende dosering tot uiteindelijk 12 mg/dag. Na één week, ongeveer 1 uur na de laatste gift prazosine, werd ook bij deze groep het effect van de tweede ketanserin-injectie bestudeerd.

Intra-arteriële bloeddruk en hartslag werden in alle studies geregistreerd zoals beschreven in hoofdstuk 4. De patiënten bleven opgenomen in de kliniek gedurende deze week en dagelijks werden bloeddruk, lichaamsgewicht en excretie van natrium en kalium in de urine bepaald. De beide groepen patiënten waren vergelijkbaar voor wat betreft leeftijd en initiële bloeddruk, namelijk $173 \pm 3 / 88 \pm 2$ mmHg voor de diuretica-groep en $165 \pm 4 / 83 \pm 8$ mmHg voor de prazosinegroep (niet significant).

5.2.3. Autonome insufficiëntie

Bij 4 patiënten met autonome insufficiëntie werd de reactie op ketanserin vergeleken met de niet-selectieve α -blokker phentolamine. Voor een uitgebreide beschrijving van deze 4 patiënten wordt verwezen naar hoofdstuk 4. De patiënten waren onbehandeld gedurende 3 weken. De haemodynamische effecten op intra-arteriële bloeddruk en hartfrequentie werden gedurende 15 minuten gevolgd, zoals beschreven in hoofdstuk 4. In gerandomiseerde volgorde werd of ketanserin, 10 mg intraveneus in 2 minuten, of

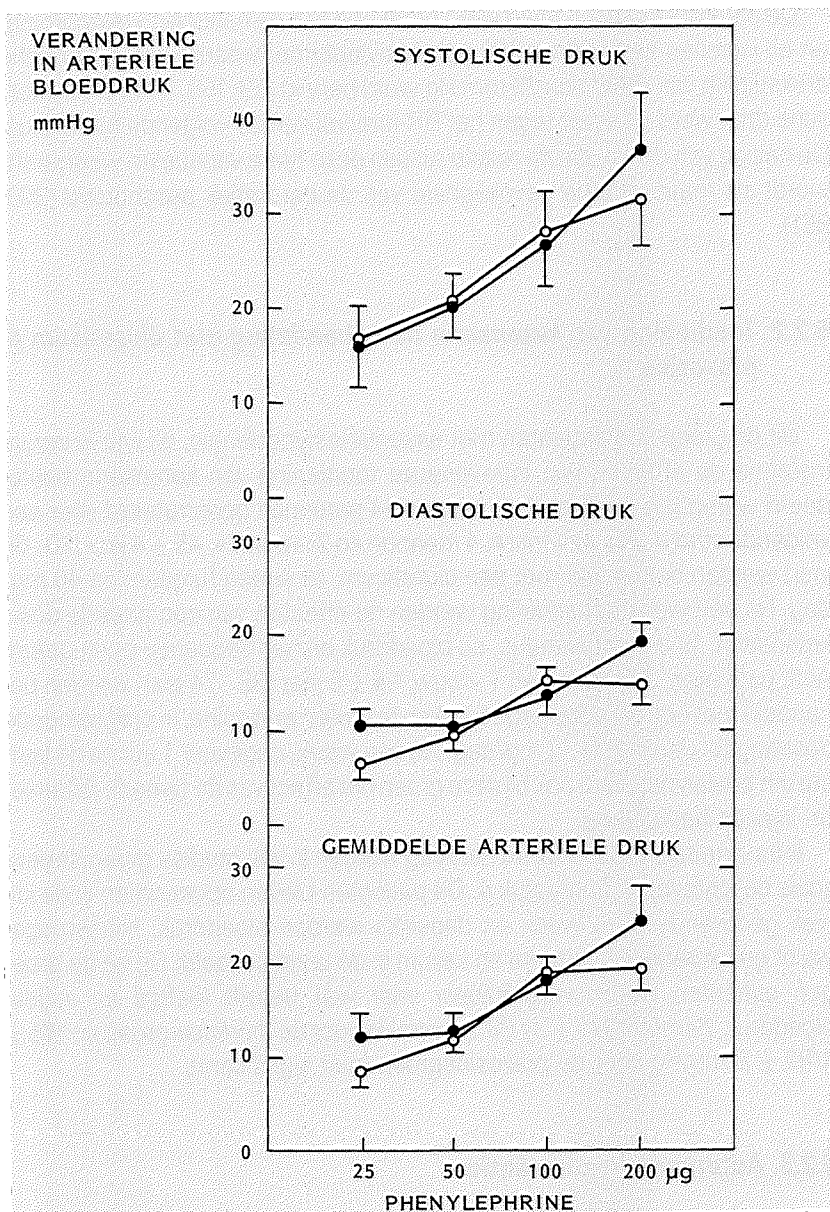


fig. 5.2. Effecten van phenylephrine-bolusinjecties op de bloeddruk bij 7 patiënten met essentiële hypertensie, voor (gesloten punten) en tijdens (open punten) ketanserin-infusie.

phentolamine, 20 mg intraveneus in 2 minuten, geïnjiceerd. Na een interval van 2 weken werden de studies voltooid met een injectie van respectievelijk of phentolamine of ketanserin.

5.3. Resultaten

5.3.1. Phenylephrine-injecties

Phenylephrine-bolusinjecties (25 - 200 μg) hadden een duidelijk dosisafhankelijk effect op zowel systolische, diastolische als berekende gemiddelde arteriële bloeddruk (figuur 5.1). Tijdens ketanserin-infusie daalde de bloeddruk van $159 \pm 10/78 \pm 3$ naar $148 \pm 8/75 \pm 2$ mmHg ($p < 0,05$). De bloeddrukstijging ten gevolge van phenylephrine-injectie werd door ketanserin niet veranderd (figuur 5.2). Ook de verlenging van het RR-interval na phenylephrine was identiek voor en na ketanserin-toediening (figuur 5.3).

Prazosine deed de bloeddruk dalen van $159 \pm 6/79 \pm 2$ naar $141 \pm 4/71 \pm 3$ mm Hg ($p < 0,05$ / $< 0,01$). In tegenstelling tot ketanserin werd na prazosine de curve van druk - en RR - interval respons naar rechts verschoven. Vergeleken met placebo en ketanserin werd onder prazosine een systolische bloeddrukstijging van ± 15 mmHg bereikt na 200 μg phenylephrine (versus 25 μg phenylephrine onder placebo en ketanserin) en een bloeddrukstijging van ± 30 mmHg na 1600 μg phenylephrine (versus 200 μg phenylephrine) (zie tabel 5.1).

5.3.2. Baroreflexgevoeligheid

De baroreflexgevoeligheid voor en tijdens ketanserintoediening werd berekend bij 7 patiënten. Bij zes patiënten werd een correlatiecoëfficiënt tussen systolische bloeddruk en RR-interval berekend van 0.80 - 0.99. Deze waarden komen goed overeen met die, vastgesteld door andere auteurs (335). Bij één patiënt, een 66-jarige man met langdurig bestaande hypertensie en atherosclerose bleek een correlatiecoëfficiënt tussen systolische druk en de RR interval van 0.54 te bestaan (niet significant). Deze patiënt werd derhalve buiten beschouwing gelaten. De gevoeligheden werden bepaald bij 100 en 200 μg phenylephrine-injecties. De regressiecoëfficiënten werden nadien logaritmisch gemiddeld (153), en verschilden niet voor 100 en 200 μg phenylephrine-injectie: $8,0 \pm 0,65$ en $9,19 \pm 0,70$ msec/mmHg. De individuele gegevens voor 100 μg phenylephrine worden gepresenteerd in tabel 5.2. Ketanserin had geen invloed op de baroreflexgevoeligheid. De gemiddelde gevoeligheid gemeten op basis van de regressiecoëfficiënt veranderde niet significant (tabel 5.2).

Tabel 5.1. Effecten van phenylephrine bolus injecties bij patiënten met hypertensie op bloeddruk en rr-interval, voor en na ketanserin en na prazosine toediening

Phenylephrine	Onbehandeld			Ketanserin			Prazosine		
	Bloeddruk (mm Hg)		RRint. (msec)	Bloeddruk (mm Hg)		RRint. (msec)	Bloeddruk (mm Hg)		RRint. (mm sec)
	syst.	diast.		syst.	diast.		syst.	diast.	
basaal	159	78	903	148	75	875	141	71	899
	10	3	60	8	2	57	4	3	51
25 µg	175	88	1049	165	82	1024	145	72	950
	8	3	65	6	2	76	4	2	54
50 µg	178	89	1116	166	83	1060	149	75	951
	7	3	70	6	2	84	4	2	82
100 µg	184	95	1152	174	89	1092	148	74	1044
	8	3	71	6	2	93	2	2	80
200 µg	195	100	1176	177	91	1069	154	78	1054
	9	4	85	6	2	62	4	2	88
400 µg	—	—	—	—	—	—	159	80	1077
							3	1	87
800 µg	—	—	—	—	—	—	164	82	1147
							4	2	71
1600 µg	—	—	—	—	—	—	172	85	1184
							5	3	87

weergegeven zijn gemiddelden ± standaardfout

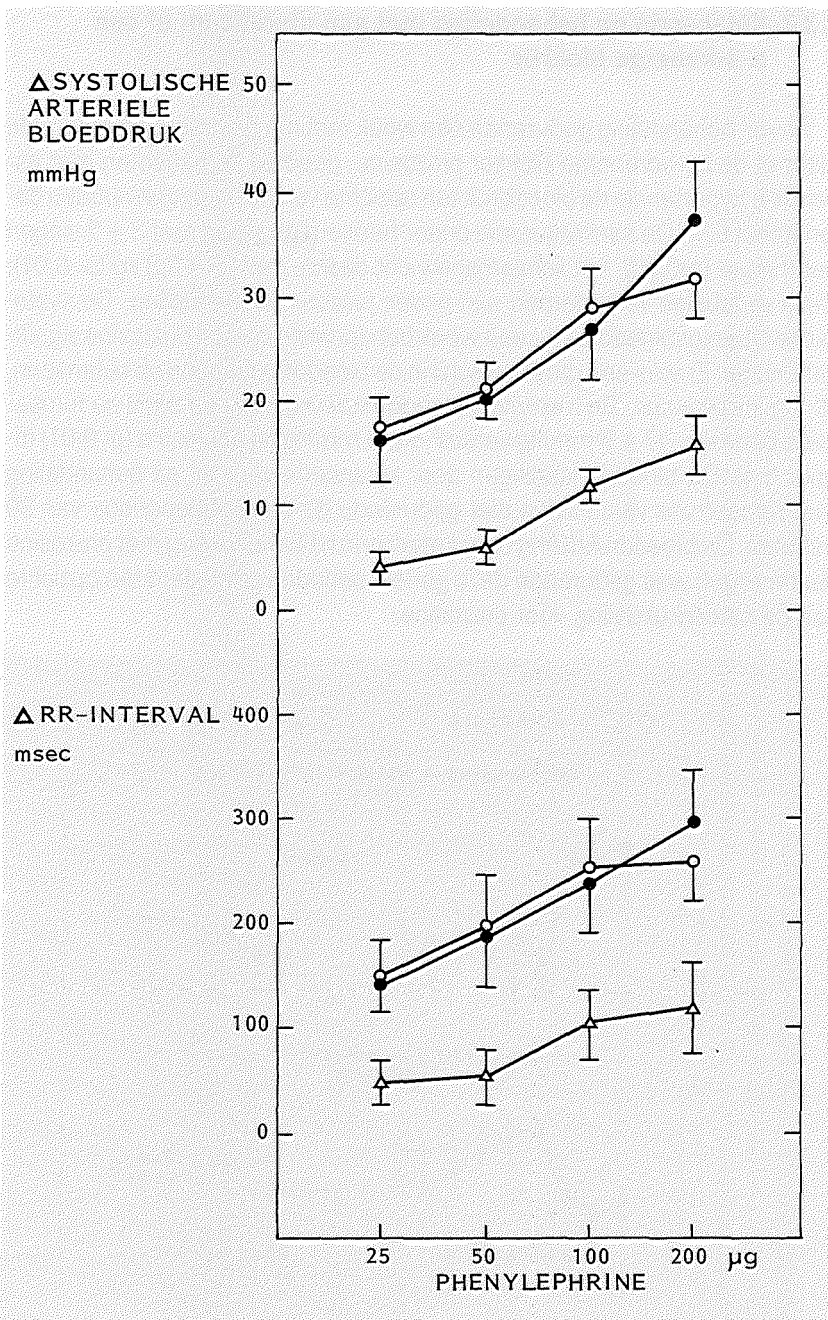


fig. 5.3. De effecten van bolusinfecties phenylephrine op bloeddruk en R-R interval bij 7 patiënten met essentiële hypertensie, voor (gesloten punten) en tijdens (open punten) ketanserin-infusie en na behandeling met prazosine (driehoeken).

5.3.3. Ketanserin na behandeling met een diureticum of een α -adrenerge blokker

Zowel behandeling gedurende één week met het diureticum furosemide als met de α_1 -adrenerge blokker prazosine, deed bij de patiënten met essentiële hypertensie de bloeddruk ten opzichte van de uitgangswaarden dalen (tabel 5.3). De hartfrequentie onder furosemide steeg met 3 ± 2 slagen per minuut ($p < 0,05$), het lichaamsgewicht daalde met $2,1 \pm 0,3$ kg ($p < 0,01$). Deze variabelen veranderden niet onder prazosinebehandeling. De systolische uitgangsbloeddruk na een week behandeling was bij prazosine significant hoger. Er was een groot verschil in de bloeddrukrespons op ketanserin, 10 mg intraveneus. De maximale bloeddrukdaling op ketanserin na furosemide bedroeg -17 ± 5 mmHg versus -5 ± 4 mmHg na prazosine ($p < 0,01$) (figuur 5.4). De bloeddrukdalingen door ketanserin vóór en na behandeling met furosemide verschilden niet gedurende de observatieperiode van 30 minuten. De bloeddrukdaling door ketanserin na behandeling met prazosine daarentegen was gedurende deze gehele periode verminderd ten opzichte van de bloeddrukdaling vóór prazosine.

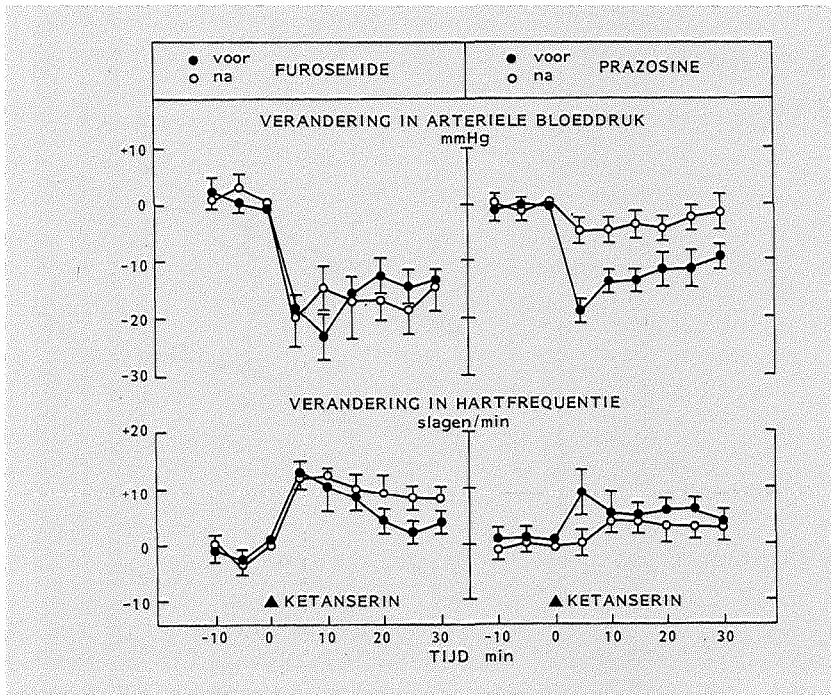


fig. 5.4. De effecten van ketanserin (10 mg i.v.) op bloeddruk en hartfrequentie voor en na behandeling met furosemide (linker paneel, $n = 6$) en voor en na de behandeling met prazosine (rechter paneel, $n = 8$).

5.3.4. Autonome insufficiëntie

Phentolamine, in een bij normale personen bloeddrukverlagende dosering van 20 mg, veroorzaakte bij deze patiënten geen bloeddrukdaling noch reflextachycardie. Ketanserin, 10 mg intraveneus in 2 minuten, daarentegen veroorzaakte een duidelijke bloeddrukdaling van ± 20 procent voor zowel systolische als diastolische drukken (figuur 5.5). Door een insufficiëntie van de baroreceptorreflex werd bij deze patiënten geen hartfrequentietoename waargenomen. Er deden zich echter geen verschijnselen van bedreigde cerebrale perfusie voor; de patiënten werden in liggende toestand onderzocht.

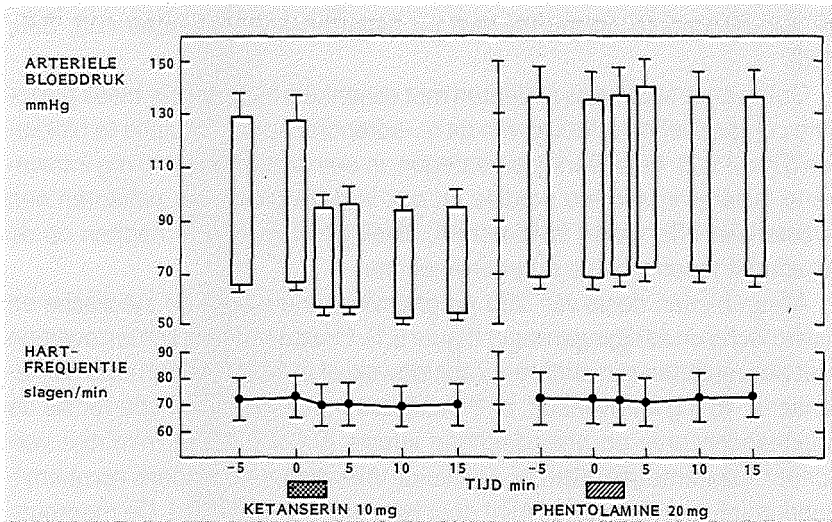


fig. 5.5. De effecten van ketanserin (10 mg i.v., linker paneel) en phentolamine (20 mg i.v., rechter paneel) op arteriële bloeddruk en hartfrequentie bij 4 patiënten met autonome insufficiëntie.

5.4. Discussie

5.4.1. Studies met α_1 -adrenerge agonisten en antagonist

Ketanserin is geen volledig specifieke antagonist op 5-HT_2 receptoren. De stof bezit ook affiniteit voor postsynaptische α_1 -adrenerge receptoren, histaminerge-1-receptoren en in mindere mate voor dopaminerge receptoren (hoofdstuk 3). Bij mens en dier kunnen farmaca met mogelijke α_1 -adrenerge blokkerende activiteit hierop getest worden door toediening van phenylephrine (α_1), methoxamine (α_1), adrenaline (α_1 en α_2) en noradrenaline (α_1 en

α_2). Methoxamine en phenylephrine lijken de meest specifieke postsynaptische α_1 agonisten te zijn (103).

Phenylephrine heeft echter ook een indirect sympathicomimetisch effect, voortkomend uit secundaire noradrenaline en adrenaline-release, vergelijkbaar met het effect van tyramine (103). Door alleen in het stijgende deel van de drukcurve (± 10 hartslagen) de effecten van phenylephrine te bestuderen was het mogelijk het indirecte sympathicomimetische effect van phenylephrine grotendeels buiten beschouwing te laten.

Farmaca die competitief α_1 receptoren blokkeren, veroorzaken een parallelle verschuiving naar rechts van de bloeddruk-responscurve op phenylephrine. Voor prazosine, een selectieve post-synaptische α_1 blokker, is dit duidelijk aangetoond bij normotensieve en hypertensieve patiënten (113, 330, 335).

Ook in onze studies bij patiënten met essentiële hypertensie bleek prazosine competitief de effecten van de α_1 -adrenoreceptorstimulatie te blokkeren (figuur 5.2). Ketanserin daarentegen, in een dosering van 10 mg intraveneus, waarbij in eerdere studies en ook in deze groep van patiënten een hypotensief effect was aangetoond, bleek geen invloed te hebben op de bloeddruk-responscurve op phenylephrine.

Alleen bij een dosis van 200 μg phenylephrine waren de systolische en diastolische drukstijgingen lager (figuur 5.1). Onze gegevens komen overeen met de resultaten van anderen. Zabudowski et al. (431) stelden vast dat ketanserin, 10 mg intraveneus, bij 9 patiënten met essentiële hypertensie de drukresponscurve op phenylephrine infusie (0,6-4,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) niet verschooft. Daarentegen werd bij 7 gezonde vrijwilligers de respons op phenylephrine-infusie (1-3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) door ketanserin verminderd. De meetpunten waren echter te gering in aantal om een parallelle verschuiving in de curve te construeren (143). Wanneer, in plaats van phenylephrine, methoxamine bolusinjecties, 0,5-8,0 mg, werden toegediend bij normotensieve vrijwilligers, werd ook een geringe verschuiving gezien (321). In een placebo-gecontroleerde studie bij 7 vrijwilligers veroorzaakte chronische toediening van ketanserin, 80 mg/dag, een verminderde bloeddrukreactie na infusie van 0,9-3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ phenylephrine; zowel bij lage ($33,7 \pm 2,2$ ng/ml) als hoge ketanserinspiegels ($108,4 \pm 20,3$ ng/ml) werd de curve enigszins naar rechts verschoven (432). De helling van de curve onder ketanserin en placebo verschilde zo, dat niet van een parallelle verschuiving gesproken kon worden; dit in tegenstelling tot de evenwijdige en veel sterkere verschuiving na toediening van 1 mg prazosine (29). Bij 8 patiënten met essentiële hypertensie werden de effecten van chronisch ketanserin, 6 weken 120 mg per dag, en placebo vergeleken voor wat betreft de bloeddrukverhoging na langzame infusie van 200 tot 800 μg methoxamine (120). Alleen bij de hoogste infusiesnelheid van methoxamine werd de bloeddrukstijging onder ketanserin

Tabel 5.2 Regressie-coëfficiënt, correlatie-coëfficiënt tussen systolische bloeddruk en RR-interval voor een gegeven aantal hartslagen, vóór en na infusie van ketanserin na een bolus injectie van 100 µg phenylephrine

patiënt nr.	Onbehandeld			Ketanserin		
	regressie-coëff. (msec/mmHg)	correlatie-coëff.	hartcycli (slagen)	regressie-coëff. (msec/mmHg)	correlatie-coëff.	hartcycli (slagen)
1	6.59	.94	6	4.59	.97	6
2	5.16	.84	7	7.62	.97	8
3	8.11	.85	7	9.11	.95	9
4	14.53	.99	6	13.70	.89	6
5	13.51	.92	10	13.20	.79	8
6	5.03	.80	9	6.00	.76	11
gemiddelde	8.04			8.38		
± standaardfout	0.65			0.63		

verminderd. Gezien de helling van de curves was zeker niet duidelijk sprake van competitief antagonisme. Bij 3 patiënten werd tevens phenylephrine geïnfundeerd, alleen na de hoogste dosering van 200 µg phenylephrine werd een afbuiging van de curve gezien (121).

Bovenstaande resultaten suggereren dat er een verschil bestaat in het mechanisme van het antihypertensieve effect bij de mens tussen chronisch en acuut toegediend ketanserine en dat er een verschil bestaat tussen de effecten bij hypertensieve en normotensieve personen. Het antihypertensieve effect van ketanserine intraveneus bij patiënten met hypertensie lijkt niet gerelateerd aan α_1 -adrenerge blokkade, terwijl bij normotensieve personen eenzelfde dosis een niet-competitief antagonisme lijkt te veroorzaken. Dit antagonisme is echter zwak en kan, gezien het niet competitieve karakter, niet op simpele α_1 -blokkade berusten. Het verschil wordt niet verklaard door de ketanserinespiegels, die in de gerefereerde studies in de werkzame range (70 tot 100 ng/ml) lagen (281). Of de belangrijkste metaboliet van ketanserine, 6-hydroxyketanserine, medeverantwoordelijk is voor de waargenomen effecten is niet bekend (239).

De verschillende bevindingen kunnen voor een deel verklaard worden uit methodische verschillen. De bloeddrukstijging op lage doses agonisten zijn discreter (in de orde van 5-10 mmHg) en vereisen doorgaans een intra-arteriële meting zoals door ons en anderen verricht. Geringe verschillen in bloeddrukstijging tussen placebo en ketanserine kunnen met de standaard kwikmanometer gemist of overschat worden, door het niet-continue karakter van de meting. Wij analyseerden de effecten van phenylephrine slag voor slag, waarbij kortdurende (± 10 sec) bloeddrukstijgingen, niet gemist konden worden. Dit probleem werd door sommige onderzoekers ondervangen door geleidelijke infusie van phenylephrine in stappen van een half uur. Het is niet ondenkbaar dat het indirecte sympaticomimetische (tyramine-achtige) effect van phenylephrine bij zulke infusies een rol gaat spelen.

Om een zuivere parallele verschuiving aan te tonen dienen log-dosisresponscurves geconstrueerd te worden over een lang traject, waarbij ook hoge doses van de agonist moeten worden gebruikt. Bij patiënten met hypertensie is een krachtige pressorrespons vaak ongewenst. De geconstrueerde curves zijn qua gebruikte dosis onderling goed vergelijkbaar, echter het traject van de agonist dosis is soms te kort om eenduidige conclusies te trekken.

Chronische toediening van een effectief antihypertensivum kan de, bij hypertensie versterkte, respons op vasopressoren normaliseren (105). Aspecifieke effecten, zoals een veranderde vaatlumen - wandratio en resetting van de baroreflex, maken de resultaten bij chronisch gebruik moeilijk te interpreteren. Na acute infusie met ketanserine konden wij geen verschil in baroreflexgevoeligheid vaststellen.

Tabel 5.3 Effecten van ketanserin op bloeddruk en hartfrequentie voor en na behandeling met furosemide (linker kolom) en voor en na behandeling met prazosine (rechter kolom)

	Furosemide (n=6)				Prazosine (n=8)			
	Arteriële bloeddruk (mmHg)		Hartfrequentie (sl/min)		Arteriële bloeddruk (mmHg)		Hartfrequentie (sl/min)	
	syst.	diast.			syst.	diast.		
Onbehandeld	173±11	91±3	77±5		173±10	82±7	67±5	
na ketanserin								
5 min	143± 9	a 75±2	89±7	a	140±7	a 67±5	72±5	a
15 min	145± 8	a 78±2	84±7	a	138±6	a 65±4	67±5	
30 min	152±10	a 79±3	81±7	a	165±6	a 74±3	66±3	
Behandeld	140±9	b 80±4	80±7		161±9	b, d 76±5	67±5	
na ketanserin								
5 min	116±7	c 68±4	92±7	c	153±8	72±5	67±4	
15 min	116±7	c 69±4	91±8	c	157±9	73±5	70±4	
30 min	124±6	c 74±3	88±8	c	161±8	76±4	74±7	

a = $p < 0,01$ t.o.v. onbehandeld

b = $p < 0,05$ t.o.v. onbehandeld

c = $p < 0,01$ t.o.v. behandeld

d = $p < 0,05$ t.o.v. furosemide groep

5.4.2. Studies na voorbehandeling met andere antihypertensiva en studies bij patiënten met autonome insufficiëntie

Een krachtig argument dat het hypotensieve effect van ketanserin kan optreden onafhankelijk van gelijktijdige α_1 -adrenerge blokkade wordt geleverd door onze waarnemingen bij patiënten met autonome insufficiëntie.

Het diermodel dat het meest de patiënt met autonome insufficiëntie benadert is de gepende rat, al dan niet gecombineerd met ganglion-blokkade. In dit model veroorzaakte ketanserin in lage doses een kortdurende daling van de bloeddruk (134). In hogere doses (1,0 - 10 mg/kg) werd een langdurige drukdaling gezien (134, 162, 205), te antagoneren met sympathische stimulatie en phenylephrine-toediening. Bij genarcotiseerde honden gaf ketanserin 0,005-5,0 mg intra-arterieel, vasodilatatie en toename van de bloedflow in de arteria-femoralis, die bleef bestaan na sympathische denervatie (39, 323). De verklaring van het vaatverwijdende effect van ketanserin in gedenerveerde modellen kan tweëerlei zijn, namelijk serotonerge blokkade of directe vaatverwijding. Van dit laatste is bij *in vitro* experimenten niets gebleken. Het ligt daarom voor de hand dat in deze modellen de vaattonus, althans voor een deel, door serotonine gehandhaafd wordt en dat bezetting van de perifere vasculaire 5-HT₂-receptor door ketanserin de bloeddruk doet dalen.

Anderzijds lijkt bij hypertensie patiënten met intacte sympathicusfunctie een zekere mate van α_1 -adrenerge stimulatie noodzakelijk om het bloeddrukverlagend effect van ketanserin volledig tot expressie te laten komen. De bloeddrukdaling op ketanserin intraveneus was na behandeling met hoge doses prazosine sterk gereduceerd (figuur 5.4). Voor en na behandeling met furosemide was de bloeddrukdaling op ketanserin gelijk, zodat een aspecifiek effect van bloeddrukdaling persé uitgesloten lijkt. Onze waarnemingen komen overeen met die van anderen, waarbij 3 van de 4 patiënten met ernstige hypertensie die behandeld waren met prazosine geen reactie op ketanserin toonden (274). Ook bij het intacte dier werd de bloeddrukrespons op ketanserin verminderd of teniet gedaan door voorbehandeling met hoge doses prazosine (261, 279). Deze bevindingen steunen de theorie van het amplificerend effect van serotonine op het pressor effect van noradrenaline.

Bij de gepende rat veroorzaakt toediening van zeer specifieke 5-HT₂ antagonist (ritanserin of BW501C67) niet of nauwelijks een bloeddrukdaling (134, 162). Ook bij 10 patiënten met essentiële hypertensie gaf ritanserin geen bloeddrukdaling, terwijl ketanserin bij deze patiënten een duidelijk hypotensief effect had (193). Toevoeging van lage doses prazosine (1 $\mu\text{g/kg}$ i.v.) aan ritanserin deed de bloeddruk bij spontaan hypertensieve ratten (maar niet bij normotensieve ratten) dalen, in dezelfde grootte-orde als ketanserin

(162). Dit lijkt op het eerste gezicht in tegenspraak met onze bevindingen waarbij na prazosine minder effect van ketanserin werd gezien. Wij gaven prazosine echter in hoge doseringen, zodat verwacht mag worden dat er bij onze patiënten sprake was van nagenoeg volledige α_1 -blokkade. Mogelijkerwijs bestaat er een nog niet opgehelderde interactie tussen de α_1 - en 5-HT₂ gemedieerde pressor effecten. Het is niet duidelijk of deze interactie op receptor- of op postreceptorniveau plaats vindt.

Uit het bovenstaande kunnen de volgende samenvattende conclusies getrokken worden:

1. Bij patiënten met autonome insufficiëntie en bij gedenerveerde dieren kan ketanserin de bloeddruk verlagen onafhankelijk van α_1 -adrenerge blokkade.
2. Voor de expressie van het maximale hypotensieve effect van ketanserin bij personen met een intacte sympathicusfunctie is een bepaalde mate van α_1 -adrenerge tonus noodzakelijk.
3. Zeer specifieke 5-HT₂ antagonisten veroorzaken geen of weinig bloeddrukdaling bij patiënten met essentiële hypertensie.
4. Er zijn aanwijzingen voor een interactie op receptor- of postreceptor niveau tussen 5-HT₂ en α_1 -gemedieerde pressoreffecten.
De bloeddrukverlagende werking van ketanserin berust mogelijkerwijs op onderbreking van deze interactie.

5.4.3. Centrale werking van ketanserin.

Centrale effecten van antihypertensiva zijn bij de mens zeer moeilijk te bestuderen. Bij 5 van de 38 patiënten met hypertensie werd na de initiële injectie van ketanserin enige mate van slaperigheid of lethargie gemeld. Onze studies waren niet placebo gecontroleerd, zodat niet uitgemaakt kon worden of dit een ketanserin-specifiek effect was. Dezelfde bijwerkingen werden gemeld door andere auteurs (93, 94, 274).

Ketanserin penetreert nauwelijks in de liquor cerebrospinalis (202, 401). De stof heeft bij ratten geen centrale effecten, noch remt het de door serotonine geïnduceerde centrale syndromen (202). Bij normotensieve en spontaan hypertensieve ratten had ketanserin, intracerebroventriculair toegediend, geen haemodynamische effecten (296). Bij honden daarentegen werd na infusie van ketanserin in het stroomgebied van de pons cerebri een bloeddrukdaling waargenomen (78). De centraal gemedieerde bloeddrukstijging op carotisocclusie en nicotinetoediening bij genarcotiseerde honden werd geblokkeerd door ketanserin (277). Deze experimenten tonen overeenkomst met waarnemingen, waaruit de centrale werking van de partiële serotonine antagonist methysergide bleek (19). Opvallend is de gerapporteerde centrale en anxiolytische werking van de zeer selectieve 5-HT₂-receptorantagonist, ritanserin (202).

Tot nu toe zijn geen eenduidige conclusies te trekken over het mogelijke centrale effect van ketanserin bij dier en mens. De lichte sedatie, het ontbreken van sterke reflaxtachycardie, enige gegevens uit dierexperimenteel onderzoek en de recent ontdekte anxiolytische en sederende werking van de 5-HT₂-antagonist ritanserin pleiten enigszins voor een centrale werking.

Een argument tegen bloeddrukdaling uitsluitend via een centraal mechanisme is de afwezigheid van een daling van het plasma noradrenaline, na zowel acute als chronische toediening van ketanserin (zie hoofdstuk 6). Immers men mag verwachten dat zulk een mechanisme zal leiden tot een verminderde sympathische zenuwactiviteit met dientengevolge een daling van het plasma noradrenaline, zoals gezien wordt bij centraal werkende antihypertensiva als clonidine.

5.5.Samenvatting

Het acute hypotensieve effect van ketanserin bij patiënten met essentiële hypertensie kan verklaard worden door 5-HT₂ serotonerge blokkade en niet uitsluitend door α_1 -adrenerge blokkade. Het bloeddrukverlagend effect bij normotensieve vrijwilligers kan misschien voor een deel uit α -adrenerge blokkade verklaard worden, evenals het chronisch bloeddrukverlagend effect bij hypertensieve en normotensieve personen.

Bij patiënten met autonome insufficiëntie is ketanserin in staat de bloeddruk te verlagen. Bij patiënten met hypertensie daarentegen is een zekere mate van α -adrenerge stimulatie noodzakelijk om de bloeddrukdaling na ketanserin tot expressie te brengen.

Er zijn aanwijzingen dat er, voor wat betreft vasoconstrictie, een interactie bestaat tussen de 5-HT₂ receptor en postsynaptische α_1 -adrenerge receptor. Of deze interactie plaats vindt op het niveau van deze receptoren of op postreceptor niveau is niet bekend. Het vaatverwijdend effect van ketanserin kan berusten op het feit dat deze interactie teniet gedaan wordt.

Hoofdstuk 6

Neurohumorale effecten van ketanserin

Studies bij patiënten met essentiële hypertensie en *in vitro* studies

6.1. Inleiding

6.1.1. Serotonine en renine

De rol van serotonine bij de secretie van renine is vrijwel onbekend (zie hoofdstuk 2). Page (284) stelde vast dat infusie van serotonine in de arteria renalis van de hond geen renine-secretie induceerde. Toediening van serotonineprecursors aan ratten veroorzaakt een geringe stijging van het renine; serotonine depletie daarentegen verlaagt het plasmarenine (379). Cyproheptadine blijkt de gestimuleerde plasmarenine-activiteit bij de mens te kunnen remmen, waarschijnlijk door centrale mechanismen (115, 433).

6.1.2. Serotonine en aldosteron

De zona glomerulosa van de bijnierschors produceert een tweetal mineralocorticoïde hormonen, te weten corticosteron en aldosteron. Aldosteron is het belangrijkste mineralocorticoïde hormoon. De secretiesnelheid bedraagt ongeveer 150 µg/dag (54). Aldosteron oefent zijn effecten op de nier en op de tractus digestivus uit via een binding aan specifieke receptoren. De aldosteronsecretie wordt beïnvloed door adrenocorticotroop hormoon

(ACTH), door angiotensine-II en door de natrium en kaliumconcentratie (137, 282).

Van serotonine is reeds lang bekend dat het de aldosteronsecretie *in vitro* kan stimuleren (zie hoofdstuk 2). In suspensies van geïsoleerde glomerulosacellen van de rat bleek serotonine, vergeleken met angiotensine-II, kalium en ACTH, een krachtige stimulator van de aldosteronsecretie (37, 172). De door serotonine veroorzaakte stimulatie van de aldosteronsecretie wordt verminderd door ketanserin, hetgeen erop kan wijzen dat de 5-HT₂ receptor bij deze stimulatie betrokken is (421). Niet alleen op het niveau van de bijnierschors maar ook op hypothalaam/hypofysair niveau kan serotonine de aldosteronafgifte door de bijnierschors reguleren. Hormoonproducerende cellen in de hypofyse voorkwab, te weten groeihormoon (GH)-, prolactine (PRL)- en ACTH-producerende cellen staan onder stimulerende serotonerge controle die waarschijnlijk via de hypothalamus verloopt (voor overzichten zie 352, 413).

Bij de mens is een verhoging van het plasma-aldosteron waargenomen na infusie van serotonine. Bloeddruk, plasmarenine-activiteit en plasma-cortisol veranderden niet (257). Uitgaande van deze waarnemingen is de serotonine antagonist cyproheptadine toegepast bij patiënten met primair idiopathisch hyperaldosteronisme en bij de ziekte van Cushing (166, 220). Nadien zijn er rapporten verschenen die de effecten van cyproheptadine tevens konden verklaren door binding aan mineralocorticoïd-receptoren in de nier (24).

6.1.3. Serotonine en noradrenaline

Noradrenaline komt, evenals serotonine, voor in het perifere en centrale zenuwstelsel. Over de interactie tussen beide mono-amines is weinig bekend. Beide stoffen worden aan de celwand gemetaboliseerd door MAO, zodat enige vorm van competitie hierbij kan ontstaan (zie hoofdstuk 1). Zowel noradrenaline als 5-HT delen, in sommige vaatgebieden van bepaalde diersoorten, affiniteit voor de α_1 -adrenerge receptor.

Serotonine kan de noradrenaline release op verschillende manieren beïnvloeden, door (a) verdringing van noradrenaline uit de sympatische zenuwuiteinden, door (b) remming van de re-uptake van noradrenaline (zowel via uptake-1 als uptake-2 mechanismen) en door (c) remming van de noradrenaline release uit sympatische zenuwuiteinden. (na activatie van de presynaptische 5-HT₁ receptor) (84, 107, 247, 354).

6.2. Patiënten en methoden

6.2.1. Analytische bepalingen

6.2.1.1. Actief renine

De concentratie van het enzymatisch actieve renine werd bepaald volgens de methode, zoals beschreven door Derkx en medewerkers (101). Bloed werd na afname verzameld in buizen met disodiummethyleendiamine-tetra-acetaat (EDTA) tot een concentratie van 5 mmol/liter. Direct na afname werd het bloed bij 4°C gecentrifugeerd, 5000 rpm, 15 min. Plasma werd bij -20°C bewaard. Gebufferde monsters (pH 7,5) van 0,10-0,25 ml plasma werden bij 37°C geïncubeerd met reninesubstraat, afkomstig van genefrectomeerde schapen.

Het gevormde angiotensine-I werd met behulp van een radioimmunoassay bepaald. Gezuiverd humaan renaal renine werd als externe standaard gebruikt. De renine concentratie werd uitgedrukt in micro-units van deze standaard per ml plasma. De normaalwaarden bij een natriuminname van 50 mmol/dag is 15-50 μ U/ml en bij een normale natriuminname 6-50 μ U/ml. De waarden van renine zijn niet volgens de normale verdeling over de populatie gespreid. Na logaritmische transformatie is dit wel het geval.

6.2.1.2. Aldosteron

Plasma aldosteron werd bepaald met behulp van een commercieel beschikbare radioimmunoassay (CIS, Sorin Biometrica, Salaggia, Italië). Na bloedafname in EDTA-buizen werd plasma geëxtraheerd (136). 3 H-aldosteron werd als interne standaard gebruikt ter berekening van de recovery na extractie. De normaalwaarden van het plasma-aldosteron (tussen 9 en 11 uur 's ochtends) bedraagt 40-180 pg/ml.

6.2.1.3. Noradrenaline

Het plasma noradrenalinegehalte werd bepaald met de radioenzymatische methode zoals beschreven door Henry (182). Hierbij wordt noradrenaline enzymatisch omgezet tot 3 H-adrenaline in aanwezigheid van 3 H-gelabeld S-adenosyl-L-methyl-methionine (SAM) en het enzym phenyletanolamine-N-methyltransferase (PNMT). Vijfhonderd pg noradrenaline werd als interne standaard aan de plasmamonsters toegevoegd. Normaalwaarden, bij liggende patiënten (meer dan 1 uur), bedragen 150-400 pg/ml.

6.2.2. Korte termijn studies met ketanserin

6.2.2.1. Patiënten en protocol

Vijftien patiënten, 11 mannen en 4 vrouwen, 54 ± 3 (38-74) oud, namen deel aan deze studie. Alle patiënten hadden essentiële hypertensie, bevestigd door routine-onderzoek, intraveneuze pyelografie, nierscintigrafie en, op indicatie, angiografie van de arteria renalis.

De patiënten waren onbehandeld gedurende tenminste 3 weken voor de studie, waarna zij opgenomen werden op een balansafdeling van het ziekenhuis, ter instelling op een standaarddieet, waarin 50 mmol natrium en 100 mmol kalium per dag. Dagelijks werden bloeddruk, hartfrequentie, lichaamsgewicht, excretie van natrium en kalium in de 24-uurs urine en serum natrium, kalium en kreatinine bepaald. Wanneer bleek dat de patiënten in zoutbalans waren werden de studies begonnen. Deze werden in de ochtenduren uitgevoerd vanwege de invloed van het dag- nachtritme op aldosteron. Intra-arteriële bloeddruk en hartfrequentie werden geregistreerd zoals beschreven in hoofdstuk 4.

Nadat een stabilisatieperiode van een half uur in acht was genomen, werd ketanserin, 10 mg in 20 ml NaCl 0,9 procent opgelost, in 2 tot 3 minuten intraveneus toegediend. De effecten van ketanserin werden gedurende 150 minuten vervolgd. Arteriële bloedmonsters voor de bepaling van renine en aldosteron werden elke 30 minuten verkregen, aanvangend 30 minuten voor de injectie van ketanserin. Bij 12 patiënten met essentiële hypertensie, 8 mannen en 4 vrouwen, 59 ± 4 (40-77)jaar, werden noradrenalinespiegels gemeten op dezelfde tijdstippen.

Zes patiënten uit de groep van 15 met essentiële hypertensie, 4 mannen en 2 vrouwen, 51 ± 4 , jaar bleven opgenomen voor vervolgstudies. Zoutdepletie bij deze patiënten werd bereikt door een dieet bevattende 10 mmol natrium/dag, gecombineerd met furosemide, 40 mg/dag. Kaliumdepletie werd voorkomen door gelijktijdig toedienen van kaliumchloride bij een serum kalium $< 3,5$ mmol/liter (Slow-K® 200 mg/dag). Na een gewichtsreductie van meer dan 2 kg in 5 tot 7 dagen werden opnieuw de effecten van ketanserin op de bloeddruk, hartfrequentie, renine en aldosteron bestudeerd volgens bovenstaand protocol. Tevens werd bij deze 6 patiënten het effect van infusie van 0,25 mg β -¹⁻²⁴ACTH (Synacthen®, Ciba-Geigy, Basel-Zwitserland), 120 minuten na injectie van ketanserin bestudeerd. Dit gebeurde zowel voor als na zoutdepletie. De aldosteron-respons op ACTH-infusie bij onbehandelde patiënten met essentiële hypertensie voor en na zoutdepletie werd verkregen uit de literatuurgegevens (192, 215). De percentuele responses van aldosteron op ACTH-toediening, voor en na zoutdepletie en voor en na ketanserin injectie konden met elkaar worden vergeleken.

6.2.3. Lange termijn studies met ketanserin

De effecten van langdurige toediening van ketanserin per os werden bestudeerd bij 24 patiënten met essentiële hypertensie. Zeventien mannen en 7 vrouwen, 50 ± 3 (24-69) jaar, met ongecompliceerde hypertensie namen deel aan een placebo-gecontroleerde, dubbelblind uitgevoerde studie, waarin de effecten van ketanserin 80 mg/dag met die van placebo vergeleken werden (voor een uitvoerige beschrijving van deze studie zie hoofdstuk 7). Na een inlooperperiode van 4 weken placebo werden de patiënten gerandomiseerd voor behandeling met ketanserin of placebo gedurende 8 weken. Nadien volgde een cross-over periode. De patiënten gebruikten geen andere medicatie en de natrium-inname in het dieet werd gedurende de studie niet gewijzigd. Aan het einde van de inloop periode en na elke behandelingsperiode van 8 weken werd bloed afgenomen ter bepaling van actief renine, noradrenaline en aldosteron. De bloedafname geschiedde in de ochtenduren (9-11 uur) en nadat de patiënt minstens een uur had gelegen. Tevens werd 24-uurs urine gespaard voor bepaling van kreatinine, natrium en kalium. Bij elke controle werd de patiënt gewogen. De bepaling van noradrenaline, renine en aldosteron geschiedde zoals hiervoor beschreven.

6.2.4. *In vitro* studies met ketanserin

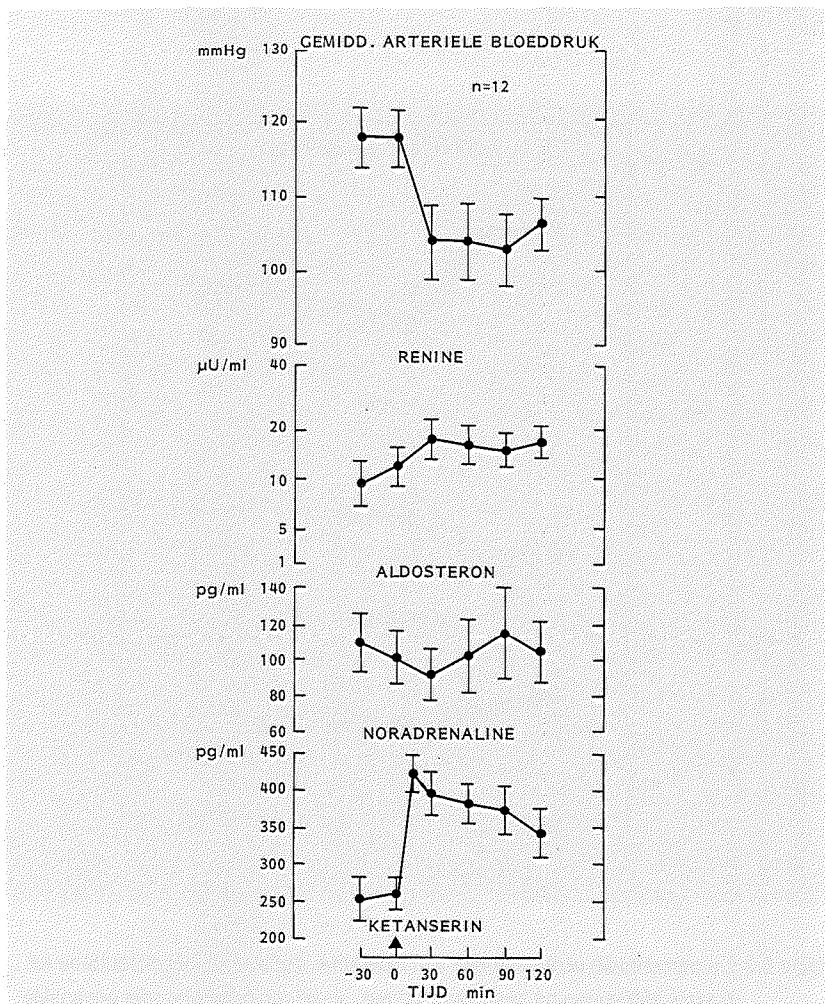
6.2.4.1. Patiënten

Bij 7 patiënten, 5 mannen en 2 vrouwen, 51 - 73 jaar, met een unilateraal aldosteronproducerend bijnierschorsadenoom werd de pathologische bijnier operatief verwijderd. Alle patiënten voldeden aan de criteria van primair hyperaldosteronisme, te weten, hypertensie, verlaagd serumkalium, gesupprimeerd en niet stimuleerbaar renine en sterk verhoogd plasma aldosteron. De lokalisatie van het adenoom gebeurde met behulp van computertomografie en de aard van de tumor werd bij operatie en microscopisch onderzoek bevestigd. De adenomen wogen 5 - 20 gr.

6.2.4.2. Methoden

De chirurgisch verwijderde bijnieren werden in een Krebs-Ringer bicarbonaatbufferoplossing bewaard. De samenstelling van deze oplossing was als volgt: runderalbumine 0,5 procent, glucose 0,2 procent, natrium 143,4 mmol/liter, kalium 5,9 mmol/liter, calcium 7,62 mmol/liter, pH 7,40. De bijnierschorscellen werden losgemaakt en geïsoleerd d.m.v. toevoeging van 3

mg/ml collagenase (collagenase I en DNA-ase I, Sigma, St. Louis, USA) en gedurende 20 minuten bij 37°C geïncubeerd. Na herhaald wassen werd 1 ml celsuspensie (5×10^6 cellen) geïncubeerd gedurende 120 minuten in een waterbad van 37°C onder 95 procent zuurstof en 5 procent CO₂. Per experiment werden 5 celcultures per onderzoeksgroep gebruikt. De volgende stoffen werden toegevoegd: ACTH 1-24 (Cortrosin®, Organon, Oss, Holland), cyproheptadine (Periactine®, Merck Sharpe & Dohme, Haarlem, Holland), serotonine (Sigma, St. Louis, USA) en ketanserin (Janssen Pharmaceutica, Beerse, België).

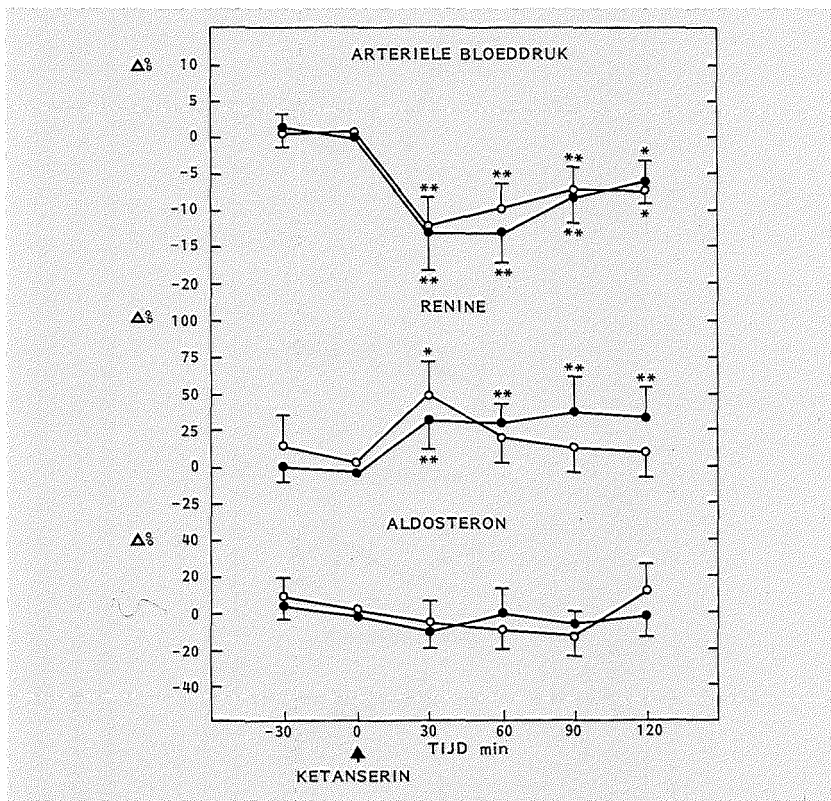


figuur 6.1. Neurohumorale effecten van ketanserin (10 mg i.v.) bij 15 patiënten met essentiële hypertensie.

Als controle experiment werden de overige zona glomerulosacellen van de verwijderde bijnier, na uitpellen van het adenoom, op dezelfde wijze geïncubeerd en getest op aldosteronproductie.

Als pilotexperiment, om de werkzame doses van de farmaca te bepalen, werden zona glomerulosa suspensies bereid uit de bijnieren van 29 Buffaloratten (160-200 g). De suspensies werden geprepareerd op de bovenbeschreven wijze. De aldosteronproductie werd gemeten met behulp van een radioimmunoassay.

Op grond van pilot experimenten werd gekozen voor de volgende doses: 600 pg/ml ACTH, 10^{-6} M cyproheptadine, 10^{-5} M serotonine en 10^{-5} M ketanserine.



figuur 6.2. De percentuele veranderingen van bloeddruk, actieve renineconcentratie en plasma aldosteron na ketanserine (10 mg i.v.) bij zes patiënten met essentiële hypertensie; voor (open punten) en na (gesloten punten) zoutdepletie.

* $p < 0,05$ t.o.v. 0 minuten

** $p < 0,01$ t.o.v. 0 minuten

Tabel 6.1. Effecten van ketanserine (10 mg i.v.) en ACTH (0,25 mg i.v.) op bloeddruk, hartfrequentie, actief renine en aldosteron bij zes patiënten met essentiële hypertensie; in zout gerepleteerde (linker kolom) en zout gedepleteerde (rechter kolom) conditie.

	Zoutrepletie				Zoutdepletie			
	min na ketanserine		min na ACTH		min na ketanserine		min na ACTH	
	0	60	120	30	0	60	120	30
Gemiddelde Arteriële bloeddruk (mmHg)	116±6	104±6 a	107±5 a	113±4	102±4 b	89±4 a	95±2 a	97±4
Hartfrequentie (slagen/ minuut)	77±5	77±6	74±7	75±7	80±7	87±8	84±7	84±7
Actief plasma renine conc. (μU/ml)	22,9±9,8	26,8±9,8	23,8±8,4	26,3±9,4	75,4±24,2 b	94,5±36,5 a	97,9±22,2 a	100,2±23,3 a
Plasma aldosteron	124±34	117±41	124±29	369±63 c	365±37 b	379±83	349±45	820±155 c

a : $p < 0,01$ t.o.v. 0 minuten

b : $p < 0,01$ t.o.v. zoutrepletie

c : $p < 0,01$ t.o.v. 120 minuten

6.3. Resultaten

6.3.1. Acute Effecten *in vivo*

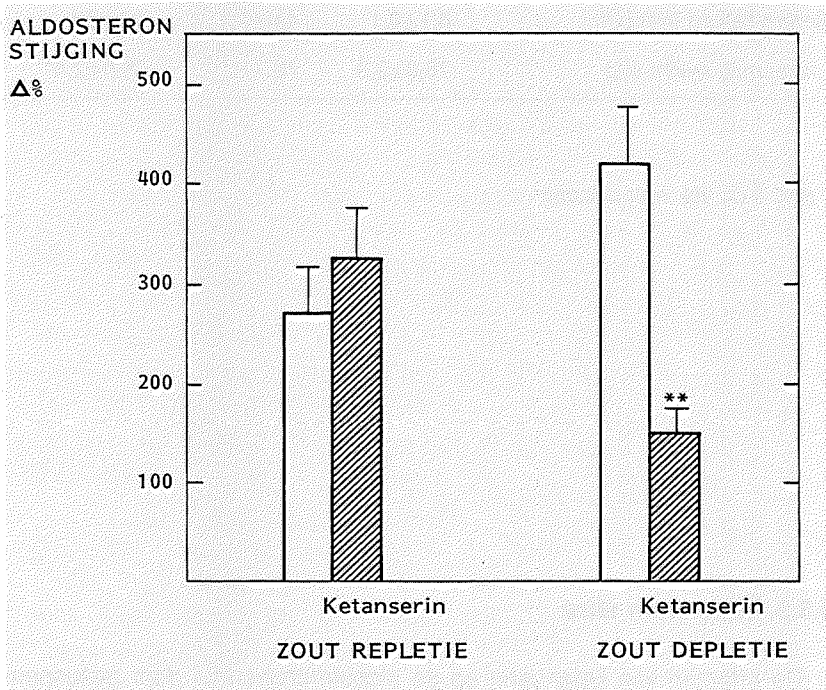
Na injectie van ketanserin daalde de gemiddelde arteriële druk met -16 ± 3 mm Hg na 5 minuten ($p < 0,01$). Overeenkomstig het patroon zoals reeds eerder was gezien hield de bloeddrukdaling gedurende 2-3 uur aan ($p < 0,05$) (figuur 6.1). Plasmarenine steeg na 30 minuten van $9,4 \pm 3,6$ $\mu\text{U/ml}$ naar $17,2 \pm 4,2$ $\mu\text{U/ml}$ ($p < 0,005$). Na 90 en 120 minuten leken de waarden nog steeds verhoogd, $15,0$ en $17,0$ $\mu\text{U/ml}$ respectievelijk, doch niet significant verschillend van de uitgangswaarde. Het plasma noradrenaline steeg reeds na 15 minuten van 270 ± 24 naar 425 ± 28 pg/ml ($p < 0,01$) en bleef gedurende de hele observatieperiode verhoogd. Het plasma aldosteron steeg in het geheel niet en toonde zelfs een tendens tot dalen, hoewel niet significant (figuur 6.1).

De percentuele bloeddrukdaling bij 6 patiënten was voor en na zoutdepletie niet verschillend (figuur 6.2). Na een drievoudige stijging van het renine door middel van zoutdepletie werd na de tweede injectie ketanserin een stijging tot maximaal 100 $\mu\text{U/ml}$ waargenomen (figuur 6.2 en tabel 6.1). Ondanks stimulatie van het aldosteron door diuretica en zoutbeperking werd wederom na ketanserin geen stijging gezien (figuur 6.2, tabel 6.1). De percentuele aldosteronstijging, 30 minuten na $0,25$ mg ACTH intraveneus, bij 7 patiënten met essentiële hypertensie werd berekend op 268 ± 51 procent voor en op 418 ± 60 procent na volumedepletie (192, 215). De patiënten uit de literatuur waren, wat betreft leeftijd en bloeddruk vergelijkbaar met de eigen groep. De door ACTH veroorzaakte aldosteronstijging bij zoutgedepleteerde patiënten was na ketanserin significant lager dan voor ketanserin: $148 \pm 25\%$ vs. $418 \pm 60\%$ ($p < 0,01$). Bloeddruk, hartfrequentie en plasmarenine werden door ACTH toediening niet gewijzigd (tabel 6.1, figuur 6.3).

6.3.2. Chronische effecten *in vivo*

Chronische behandeling gedurende 8 weken met ketanserin, 80 mg/dag, verlaagde de bloeddruk bij 24 patiënten met essentiële hypertensie van $164 \pm 6/104 \pm 3$ mmHg na 8 weken placebo tot $158 \pm 5/98 \pm 2$ mm Hg ($p < 0,05$ voor systolische druk en $p < 0,01$ voor diastolische druk)(zie hoofdstuk 7). Aldosteron, renine en noradrenaline toonden geen verandering (tabel 6.2). Het lichaamsgewicht steeg met $1,4$ kg. De natriumexcretie, kaliumexcretie, endogene creatinineklaring en het serumkalium toonden geen verandering. De haematocriet daalde gedurende de eerste weken van behandeling met ketanserin van $0,46 \pm 0,01$ tot $0,45 \pm 0,01$ ($p < 0,05$).

Het verschil in haematocriet tussen 8 weken placebo en 8 weken ketanserin ($0,43 \pm 0,01$ en $0,44 \pm 0,01$) was echter niet significant. Het eiwit en albuminegehalte van het serum toonden geen daling na ketanserin.



figuur 6.3. De percentuele stijging van aldosteron na ACTH toediening bij zes patiënten met essentiële hypertensie, voor (linker paneel) en na (rechter paneel) zoutdepletie en voor (open balken) en na (gearceerde balken) ketanserin toediening.

** $p < 0,01$

Tabel 6.2 Chronische effecten van ketanserin op neurohumorale en renale parameters.

	Run in 4 weken	Placebo 8 weken	Ketanserin 8 weken
Plasma noradrenaline (pg/ml)	340±34	284±25	314±23
Plasma renineconc. (µU/ml)	10,5±1,7	9,8±1,7	9,2±1,6
Plasma aldosteron (pg/ml)	115±11	110±16	103±13
Endogene kreatinine klaring (ml/min)	136±14	112±13	118±17
Natriumexcretie (mmol/24 uur)	150±19	133±13	144±15
Kaliumexcretie (mmol/24 uur)	85±8	78±8	85±10
Serum kalium (mmol/l)	4,1±0,1	4,0±0,1	4,1±0,1
Lichaamsgewicht (kg)	76,8±2,3	76,7±2,4	78,0±2,4*

* $p < 0,01$ vgl. met placebo

6.3.3. Effecten *in vitro*

De effecten van ketanserin op de aldosteronsecretie door gesuspenderde glomerulosacellen werden eerst bestudeerd in cultures van de rattebijnier. De basale aldosteronproductie varieerde tussen de 0 en 20 pg/3 x 10⁵ cellen per 2 uur. Zowel ACTH (600 pg/ml) als serotonine 10⁻⁵ M stimuleerden de aldosteronsecretie (tabel 6.3). Slechts bij een hoge concentratie van ketanserin (10⁻⁴ M), trad een significante remming van de aldosteronsecretie op (tabel 6.3). Cyproheptadine werd in het rattebijniermodel niet getest.

Tabel 6.3. De effecten van ketanserine op de aldosteronsecretie van rattebijniere na stimulatie met ACTH en serotonine

	Aldosteron secretie (pg/3 × 10 ⁵ cellen/2 uur)				
	controle	ketanserine			
		10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁴ M
basaal	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20
ACTH 600 pg/ml	976±448 a	945±367	983±252	778± 55	140±28 b
Serotonine 10 ⁻⁵ M	149± 50 a	165± 50	128± 23	128± 23	63±22 c
ACTH 600 pg/ml + Serotonine 10 ⁻⁵ M	1004±334 a	909±432	1038±129	706±207	187±53 d

Weergegeven zijn gemiddelden van 3 waarden, ± standaarddeviatie.

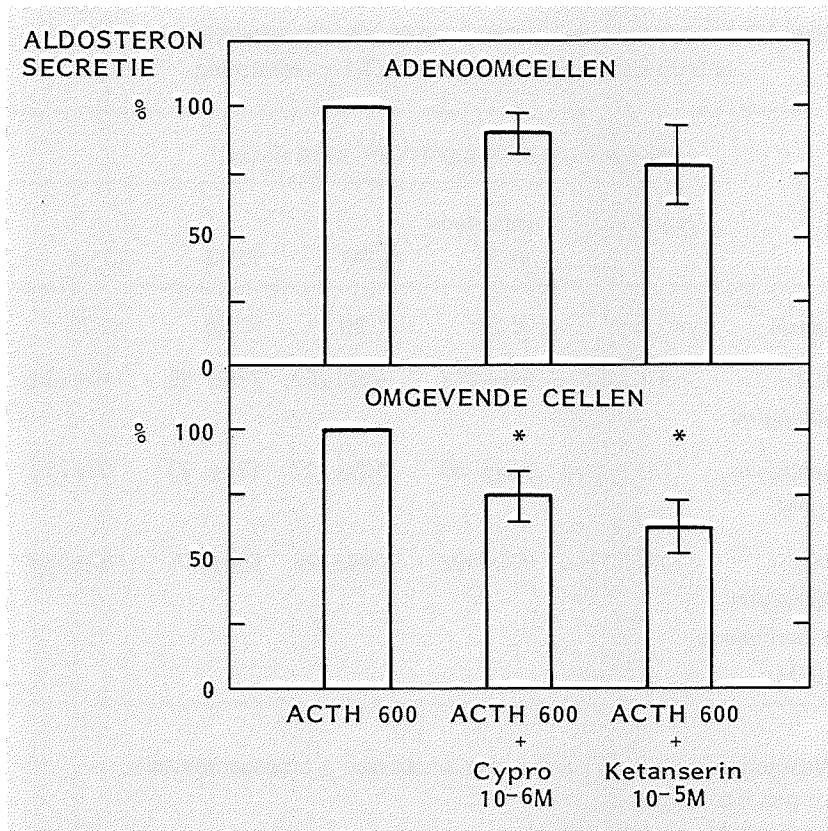
a : p < 0,01 vs basaal

b : p < 0,05 vs ACTH controle

c : p < 0,05 vs serotonine controle

d : p < 0,01 vs ACTH + serotonine controle

De basale aldosteronproductie door adenomacellen, verkregen uit bijnierschorsadenomen van patiënten met het syndroom van Conn, werd noch door ketanserine noch door cyproheptadine (10⁻⁶ M) geremd. Ook de door ACTH geïnduceerde stijging met 840 ± 119 procent was met ketanserine (600 ± 159% procent) en cyproheptadine (612 ± 125%) niet te remmen (figuur 6.4). In suspensies, bereid uit "omgevende menselijke" zona glomerulosa-cellen, daarentegen remden ketanserine en cyproheptadine in deze concentraties de door ACTH aangezette aldosteronproductie significant (figuur 6.4).



figuur 6.4. De effecten van ketanserin (10^{-5} M) en cyproheptadine (10^{-6} M) voor en na stimulatie met ACTH (600 pg/ml) op de aldosteron secretie door cellen van bijnierschorsadenomen (boven paneel) en door omgevende bijnierschorscellen (onderpaneel). De aldosteronsecretie wordt weergegeven in percentuele daling t.o.v. waarden bij ACTH 600 pg/ml. In deze figuur zijn de gegevens van 7 patiënten verwerkt.

* $p < 0,01$ vs ACTH 600 pg/ml

6.4. Discussie

6.4.1. Renine

Na ketanserininjectie treedt een stijging op van de plasma renineconcentratie en de plasma noradrenalinespiegel. Gezien de parallelle stijging van hartminuutvolume en hartfrequentie is het zeer waarschijnlijk dat activatie van de baroreflex, met verhoging van de sympathicusactiviteit, aan deze stijging ten grondslag ligt. Na chronische toediening van ketanserin gaat dit effect verloren.

Onze gegevens komen in grote lijnen overeen met die van andere auteurs. In een placebo-gecontroleerde studie bij 9 patiënten met essentiële hypertensie werd na ketanserin intraveneus een geringe stijging van de plasmarenine concentratie gezien, die niet significant verschilde van de stijging na placebo. De bloeddrukdaling in deze groep was gering (432). In drie studies bij normale proefpersonen werden de renine en angiotensine-II respons op ketanserin vergeleken met de respons op placebo. In één studie werd een stijging van de plasmarenine-activiteit en de angiotensine-II spiegel gezien, 30 minuten na injectie van ketanserin (434). In de overige studies werd alleen in zittende en staande positie een parallelle stijging van plasmarenine-activiteit en angiotensine-II vastgesteld (119, 322).

Zoals wij, vonden ook andere auteurs dat bij chronisch gebruik van ketanserin (120 mg/dag) bij patiënten met essentiële hypertensie de initiële reninestijging verdwenen was (120).

De reninestijging die gezien wordt na een injectie ketanserin kan als een sympathische respons gezien worden, zoals ook waargenomen bij andere vaatverwijders. Wel lijkt het effect geringer dan bij arteriolaire vaatverwijders, zoals apresoline en diazoxide (254). Stimulatie van de reninesecretie via centrale serotonerge mechanismen werd gesuggereerd door Ebstein (115), die een daling van de door diuretica gestimuleerde plasma renine-activiteitsstijging waarnam na voorbehandeling met cyproheptadine. Een centraal gemedieerd remmend effect van ketanserin op renine kan weliswaar niet geheel worden uitgesloten, maar onze waarnemingen wijzen vooral op een reflectoire stijging van renine.

6.4.2. Aldosteron

Ondanks een stijging van de renineconcentratie na acute toediening van ketanserin stijgt het aldosterongehalte niet, ook niet na stimulatie met zoutdepletie. Nog duidelijker wordt deze discrepantie tijdens ACTH-infusie bij zoutbeperkte patiënten met essentiële hypertensie. Chronische toediening

van ketanserin heeft ook geen effect op het plasma-aldosterongehalte.

Ook door andere auteurs werd vastgesteld dat het plasma-aldosteron na chronisch ketanserin, 120 mg/dag, bij 14 patiënten met essentiële hypertensie niet veranderde, ondanks daling van de bloeddruk en stijging van catecholamines (120). Het niet parallel veranderen van renine en aldosteron na ketanserin werd ook door andere auteurs vastgesteld. Bij 10 normotensieve personen verlaagde ketanserin, 10 mg intraveneus, het plasma-aldosterongehalte tijdens en na inspanning en in zittende houding, terwijl de plasmarenine-activiteit en angiotensine-II in de laatste situatie stegen (119). Eveneens bij normale proefpersonen werd ondanks een significante stijging van angiotensine-II geen stijging van het aldosteron gezien (434). Andere auteurs vonden een geringe, niet significante stijging van angiotensine-II en aldosteron na 10 mg ketanserin intraveneus bij 9 patiënten met essentiële hypertensie (431). Bij patiënten met een extreem hoog circulerend aldosteron ten gevolge van een bijnieradenoom of adenomateuse hyperplasie deed een acute gift ketanserin het aldosteron dalen met ongeveer 20 %. Eveneens daalden plasmacortisol en bloeddruk (258).

Na ketanserin, intraveneus toegediend, is dus een discrepantie waar te nemen tussen enerzijds stijging van plasmarenine en angiotensine-II en anderzijds het effect op aldosteron. Dit is vooral duidelijk bij activatie van het renine-angiotensine systeem met behulp van zoutdepletie en tijdens ACTH toediening. De grootte van de reninestijging kan onvoldoende zijn geweest om in eerste instantie een aldosteronrespons te bewerkstelligen, echter na stimulatie bleef deze discrepantie bestaan. Het serumkalium daalde niet en beïnvloeding door variatie in aldosteron gedurende de dag lijkt niet waarschijnlijk, omdat alle studies in de ochtenduren werden verricht. ACTH-spiegels werden bij onze patiënten niet gemeten maar bij vrijwilligers en bij patiënten met een Nelson-syndroom had ketanserin acuut en chronisch geen effect op de ACTH-secretie (155, 306).

Derhalve zijn de effecten van ketanserin op de aldosteronsynthese niet te verklaren uit invloeden via de hypofyse voorkwab.

Op het niveau van de bijnier, gebruik makend van suspensies van glomerulosacellen, blijkt serotonine de productie van steroïden te kunnen stimuleren, waarbij de effecten op aldosteron meer uitgesproken zijn dan op andere steroïden (37, 172, 369).

Serotonine zou betrokken kunnen zijn bij de conversie van cortison naar aldosteron via de 11- β -hydroxylase en 18-hydroxylasestap (271, 328). Cyproheptadine en methysergide bleken in staat de cortisol en aldosteronproductie door geïsoleerde bijnierschorscellen van patiënten met het syndroom van Cushing te remmen (311). Bij de adenomacellen van patiënten met het syndroom van Conn konden wij geen effect van ketanserin en cyproheptadine op de basale en gestimuleerde aldosteronsecretie waarnemen. Echter

bij niet adenomateuze humane zona glomerulosacellen werd een reductie van de door ACTH gestimuleerde aldosteronproductie met cyproheptadine en ketanserin gezien. Ook in de rattebijnieren was ketanserin (10^{-5} - 10^{-4} M) in staat de stimulatie door ACTH en serotonine te remmen. Andere auteurs vonden eveneens een remming van de aldosteronproductie in glomerulosacellen van de rat door ketanserin, zelfs in lagere doseringen (10^{-8} - 10^{-7} M) (262, 326).

Na stimulatie met serotonine (10^{-9} - 10^{-10} M) waren ketanserin (10^{-6} M) en methysergide (10^{-6} M) in staat om de corticosteron, aldosteron en cyclisch AMP productie door bijnierschorscellen van de rat te remmen; prazosine daarentegen had geen effect op deze variabelen (262, 421).

De concentratie ketanserin in onze opstelling was betrekkelijk hoog en α_1 -adrenerge en histaminerge-1 remming zijn niet geheel uitgesloten, hoewel van noradrenaline en histamine geen effecten op de zona glomerulosa bekend zijn.

De door ketanserin verminderde stijging van aldosteron na bloeddrukval, diuretica toediening en ACTH toediening zou derhalve misschien verklaard kunnen worden door een effect van de 5-HT₂ receptor antagonist op de cellen van de zona glomerulosa van de bijnier.

6.4.3. Noradrenaline

Het plasma noradrenaline bij 15 patiënten met essentiële hypertensie steeg na injectie met ketanserin en bleef verhoogd gedurende 2 uur. Onze bevindingen verschillen met die van een placebo-gecontroleerde studie bij 9 patiënten met essentiële hypertensie, waarin na een acute gift ketanserin geen of slechts een geringe stijging van noradrenaline werd aangetoond (431). Ook bij gezonde vrijwilligers werd geen noradrenalinstijging waargenomen (119, 434).

Onze groep patiënten had ernstige hypertensie (intra-arterieel gemeten) en de bloeddrukval op ketanserin was groter dan bij normotensieve of andere hypertensieve patiënten. Het ontbreken van een effect op noradrenaline bij de laatstgenoemde categorie kan verklaard worden uit een geringere sympathicusactivatie door de baroreflex.

De stijging in plasma noradrenaline na een acute injectie van ketanserin lijkt dus baroreflex gemedieerd, zoals reeds eerder beschreven voor andere arteriële vaatverwijders zoals diazoxide en nifedipine (254, 355).

Na chronische behandeling met ketanserin werd door ons geen verandering in noradrenaline waargenomen. Andere auteurs (120) vonden na chronisch ketanserin (120 mg/dag) een geringe stijging in plasma noradrenaline en catecholamines. In één studie werd een verlaging in plasma catecholami-

nes na 3 maanden ketanserin vastgesteld (96). Deze bevindingen wijzen erop dat een centraal mechanisme niet verantwoordelijk is voor de antihypertensieve werking van ketanserin. Immers van centraal werkende antihypertensiva, zoals clonidine en α -methyldopa, is na chronisch gebruik een daling van noradrenaline aangetoond. Het ontbreken van stijgingen in noradrenaline en hartfrequentie na chronisch ketanserin is waarschijnlijk het gevolg van resetting van de baroreflex (335).

6.5. Samenvatting

De acute neurohumorale effecten van ketanserin werden bestudeerd bij 15 patiënten met essentiële hypertensie en de chronische effecten van ketanserin bij 24 patiënten met essentiële hypertensie. Na injectie van ketanserin stegen plasma noradrenaline en plasmarenine, waarschijnlijk beide baroreflex gemedieerd gezien de gelijktijdige stijging van hartfrequentie en hartminuutvolume. Aldosteron steeg na ketanserin niet, ook niet na stimulatie met behulp van zoutdepletie. De aldosteronstijging na ACTH werd door ketanserin onderdrukt.

Deze effecten werden door middel van *in vitro* studies bij humane zona glomerulosacellen van de bijnier, afkomstig van patiënten met bijnierschoradenomen, nader bestudeerd. Op de adenomacellen hadden cyproheptadine en ketanserin geen remmend effect. In de niet-adenomateuze glomerulosacellen bleken cyproheptadine en ketanserin (10^{-5} - 10^{-4} M) in staat om de door ACTH gestimuleerde aldosteronsecretie te remmen. Deze gegevens steunen niet geheel de *in vivo* bevindingen, omdat de gebruikte concentraties ketanserin specifieke effecten op de bijnier niet uitsluiten. Gegevens van anderen, waarbij lagere concentraties ketanserin (10^{-7} M) gebruikt werden, pleiten voor een aangrijpingspunt van ketanserin op de zona glomerulosacel.

Het niet dalen van plasma noradrenaline, plasma renine en hartfrequentie na chronisch ketanserin pleiten sterk tegen een centraal aangrijpingspunt van deze stof als oorzaak voor het bloeddrukverlagend effect.

Hoofdstuk 7

Chronische effecten van ketanserine

7.1. Inleiding

Na de bemoedigende resultaten met intraveneus ketanserine bij de behandeling van essentiële hypertensie (hoofdstuk 4) lag het voor de hand de effecten op langere termijn te bestuderen.

De eerste studies met ketanserine per os werden "single-blind" uitgevoerd. Bij 28 patiënten met essentiële hypertensie werd een doseringsstudie verricht (174). Na een inlooperperiode van 2 weken placebo werd gerandomiseerd voor éénmaal daags of tweemaal daags 40 mg ketanserine. Bij beide groepen werd na één week een liggende en staande bloeddrukdaling van 7 tot 11 procent genoteerd. Dit effect bleef gedurende 8 weken gehandhaafd. Eveneens werd een open doseringsstudie verricht bij 31 patiënten met hypertensie (14). De effecten van ketanserine, 3 x 20, 3 x 40 of 3 x 60 mg gedurende 8 weken werden met elkaar vergeleken. Onder 120 mg/dag werd een bloeddrukdaling van 172/105 naar 158/94 mm Hg bereikt. Bij 15 patiënten werd de medicatie 9 maanden gecontinueerd en bedroeg de bloeddruk na dien 157/98 mm Hg. De hartfrequentie steeg met 6 slagen per minuut. De halfwaardetijd van 1 dosis ketanserine 40 mg, bepaald bij 8 vrijwilligers, bedroeg $18,5 \pm 5,1$ uur, zodat tweemaal daagse dosering op grond hiervan redelijk lijkt (373).

De effectiviteit van een geneesmiddel wordt getest aan de hand van dubbelblind, placebo gecontroleerde, cross-over studies (186).

Bij de eerste dubbelblinde placebo gecontroleerde cross-over studies met ketanserin werd echter co-medicatie toegestaan.

In een studie bij 14 bejaarde patiënten werden clonidine (5 patiënten) en diuretica (7 patiënten) gebruikt (93). Ketanserin, 120 mg/dag, verlaagde de bloeddruk van 200/90 tot 185/85 mm Hg. Bij 6 patiënten werden bijwerkingen onder ketanserin genoteerd. Een fraaie bloeddrukreductie werd bereikt in een placebo gecontroleerde dubbelblinde cross-over studie bij 20 jongere patiënten (55 ± 9 jaar) met essentiële hypertensie (55). Van deze groep gebruikten 7 patiënten een β -blokker en 7 een diureticum tijdens de studie.

Nadien werden 2 volledig placebo-gecontroleerde studies met ketanserin, 3 x 40 mg per dag, verricht. In de eerste studie bij 14 jonge patiënten met essentiële hypertensie werd na een inlooperperiode van 3 weken ketanserin of placebo gegeven gedurende 6 weken (12).

Ketanserin verlaagde de liggende bloeddruk van 159/104 tot 153/97 mm Hg ($p < 0,01$) en de staande bloeddruk van 160/114 naar 155/106 mm Hg ($p < 0,05$).

In de tweede studie werd bij een groep van 8 patiënten met milde tot matige hypertensie uitvoerige haemodynamische metingen verricht (120). De intra-arteriële druk werd met 9/7 mm Hg verlaagd. Deze bloeddrukdaling was het gevolg van een 14 procent daling in totale perifere vaatweerstand. De pulmonale vaatweerstand daalde met 15 procent ondanks gelijkblijven van vullingsdrukken van het hart. Het hartminuutvolume steeg met 7 procent en de hartfrequentie met 5 procent, derhalve nam het slagvolume met 11 procent toe.

In één studie bij 8 patiënten met essentiële hypertensie werd ketanserin monotherapie, 2 x 40 mg, vergeleken met placebo gedurende 8 weken (297). De bloeddruk daalde van 162/105 naar 151/90 mm Hg.

Gezien de beperkte ervaring met gefixeerde doses ketanserin, getest in een dubbelblind placebo gecontroleerd cross-over opzet, testten wij twee maal daags 40 mg ketanserin tegen placebo bij 24 patiënten met essentiële hypertensie. Deze studie werd uitgebreid met haemodynamische metingen met behulp van veneuze occlusieplethysmografie.

Bij 18 patiënten werd naast de "casual" meting en 1 uurs-meting met een bloeddrukautomaat ook continue 24-uurs ambulante intra-arteriële bloeddrukmeting verricht.

7.2. Patiënten en methoden

7.2.1. Patiënten

Aan de studie namen 24 patiënten met essentiële hypertensie deel, 17 mannen en 7 vrouwen, 50 ± 3 (24-69) jaar oud. Deze diagnose werd gesteld op grond van anamnese, lichamelijk onderzoek, laboratoriumonderzoek, isotoop renografie en op indicatie arteria renalis angiografie. Elke vorm van medicatie die mogelijk de bloeddruk zou kunnen beïnvloeden werd 3 weken voor de studie gestaakt. Nadat het bestaan van hypertensie was bevestigd door gedurende twee of meer opeenvolgende gelegenheden een diastolische bloeddruk van meer dan 95 mm Hg te meten werden de patiënten toegelaten tot de studie. Als exclusiecriteria werden gehanteerd: secundaire hypertensie, lever of nierfunctiestoornissen, ernstige andere ziekten (bijv. carcinoom), hypertensieve fundopathie graad 3 of 4, zwangerschap, lactatie en gebruik van orale anticonceptiva.

De klinische karakteristieken van de patiënten ten tijde van de randomisatie zijn weergegeven in tabel 7.1.

Na een inlooperperiode van 4 weken placebo werden de patiënten "at random" toegewezen aan behandeling met placebo 2 x daags of ketanserin 2 x daags 40 mg (08.00 uur en 18.00 uur). Na 8 weken volgde overkruising naar een volgende identieke periode. Toewijzing van placebo of ketanserin gebeurde met behulp van een randomisatie tabel.

Verpakkingen met identieke placebo en ketanserintabletten werden verstrekt door Janssen Pharmaceutica (Beerse, België).

Om de twee weken werden gedurende de gehele studieperiode de patiënten gezien in de ochtenduren. Bij elke controle werd het lichaamsgewicht bepaald. Bijwerkingen, spontaan gemeld of na gericht vragen, werden genoteerd. Elke 4 weken werden nierfuncties en elektrolyten bepaald, en na 8 weken werd bloed afgenomen voor bepaling van ketanserin, uitgebreidere biochemische bepalingen en hormoonbepalingen. Tevens werd plethysmografie verricht en een 12-afleidingen ECG vervaardigd.

7.2.2. Bloeddrukmetingen

Nadat de patiënten 10 minuten gerust hadden werd de liggende bloeddruk 3x met een interval van 1 minuut opgenomen met de London School of Hygiene Sfygmomanometer (327). Korotkoff fase 5 (de druk waarbij de vaattonen verdwenen waren) werd als diastolische druk genomen. Nadien werd 3 x met een interval van 1 minuut de staande bloeddruk gemeten, met noteren van de gepalpeerde hartfrequentie gedurende 15 seconden. Het gemid-

Tabel 7.1. Karakteristieken van de patiënten met essentiële hypertensie bij randomisatie

variabele	Ketanserin placebo	Placebo ketanserin
aantal patiënten	11	13
man/vrouw	6/5	10/3 a
leeftijd (jaar)	48 (33-63)	51 (24-69)
bloeddruk (mmHg)	161±10/104±5 b	174±6/1090±4
hartfrequentie (sl/min)	73±2	70±3
lichaamsgewicht (kg)	72,4±3,1	75,3±2,8
duur hypertensie (maanden)	61 (20-200)	74 (15-200)
voorafgaande behandeling		
geen	5	3
monotherapie	3 (B, D, A)	6 (B, D, C)
duplotherapie	2 (B + D)	3 (B + D)
tripletherapie	1 (B + D + A)	1 (B + D + A)
rokers/niet rokers	4/7	6/7
alcohol/non alcohol gebruikers	3/8	6/7
zoutbeperking in dieet	6	11
overige ziekten	claudicatio (1) tub. sclerose (1) migraine (2) prostatisme (1) arthrose (1)	longembolie (1) lepra (1) migraine (3) CARA (3) diabetes II (1) adipositas (1)
medicatie	acenocoumarol (1)	terbutaline spray (1)

a $p < 0,05$ vs ketanserin-placebo

b gemiddelde ± standaardfout

A = ACE remmers

B = β -blokkers

C = centrale antihypertensiva

D = diuretica

delde van de metingen werd genoteerd.

Automatische bloeddrukmeting gedurende 1 uur (12 metingen met een interval van 5 minuten) vond plaats met behulp van een bloeddrukautomaat (Accutorr TM2, Datascope, Paramus, New Jersey, USA).

Deze automaat ("Accutorr") maakt gebruik van drukoscillaties tijdens het bloeddrukmeten. Na vergelijking met behulp van intra-arteriële metingen, bij een groep patiënten en vrijwilligers, om de nauwkeurigheid van dit apparaat te testen, bleek er een goede correlatie te bestaan voor wat betreft systolische druk ($r = 0,95$, $p < 0,01$) en diastolische druk ($r = 0,92$, $p < 0,01$). De automaat overschatte de diastolische en onderschatte de systolische druk. De goede reproduceerbaarheid van metingen met behulp van de automaat bleek uit vergelijking tussen de metingen verricht tijdens placebo week 7 en placebo week 8. De correlatiecoëfficiënt voor het gemiddelde van 12 systolische drukmetingen bedroeg $0,84 \pm 0,02$ ($n = 24$, $p < 0,01$) en voor het gemiddelde van 12 diastolische drukmetingen $0,72 \pm 0,03$ ($n = 24$, $p < 0,01$).

Continue 24-uurs intra-arteriële ambulante bloeddrukmeting geschiedde volgens het Oxford-systeem (161), in de laatste week van elke 8 weken durende studieperiode. De registraties vonden plaats in het ziekenhuis waardoor gestandaardiseerd kon worden voor omstandigheden als het tijdstip van de maaltijd, nachtrust, lichaamsbeweging en middagrust. Een dunne catheter geplaatst in de arteria brachialis van de niet-dominante arm werd verbonden met een druktransducer, bevestigd op de borst van de patiënt. Het systeem werd continu geflushed door middel van heparine (1 : 1000) oplossing, 0,2 ml/min.

Druk en ECG-signalen werden vastgelegd op een draagbare cassette-recorder (Medilog 2, Oxford Instruments, Oxford, Engeland) en na registratie werd het analoge signaal omgezet in digitale gegevens met een computer (Hewlett Packard 2113-E, Palo Alto, Californië, USA). Het computerprogramma voorzag in slag-op-slag analyse (100 analoge signalen per seconde) en corrigeerde voor onvolledige registraties door demping, verlies van bloeddruk curves en bewegingsartefacten. Daarnaast werden de registraties visueel nagelopen en zonodig gecorrigeerd op deze onvolledigheden. Meer dan 90 procent van het aantal geregistreerde slagen was bruikbaar voor analyse. De computer bepaalde systolische, diastolische en gemiddelde bloeddruk en polsinterval en sloeg de informatie voor elke slag op. Uit deze gegevens konden de 1-uurs, 6-uurs en 24-uurs gemiddelden berekend worden. De bloeddrukvariabiliteit en hartfrequentievariabiliteit over korte termijn (1 uur) of lange termijn (24 uur) werd weergegeven door de variatie coëfficiënt: dit is het quotiënt van het gemiddelde van de standaarddeviatie en het gemiddelde van de arteriële bloeddruk, uitgedrukt als percentage (253). Wij vonden een goede correlatie tussen de gemiddelde 24 uren bloeddruk en de gemiddelde 1-uurs bloeddruk (automaat) gemeten in de placebo

fase (tabel 7.2). Ook bleken de gemiddelde 4-uurs bloeddruk (8.00 - 12.00 uur ochtend) en de gemiddelde 1-uurs bloeddruk goed te correleren (tabel 7.2).

Tabel 7.2. Correlaties tussen gemiddelde arteriële drukken m.b.v. 24 uurs intra-arteriële metingen (IAP), metingen met London School of Hygiene (LSH) manometer en de accutorr bloeddruk automaat onder placebotherapie

Variabelen		aantal	correlatie-coëff.	p-waarde
IAP 24 uur	— LSH	15	0,59	< 0,05
IAP 8.00-12.00 uur	— LSH	13	0,51	< 0,05
IAP 24 uur	— Accutorr	14	0,68	< 0,01
IAP 8.00-12.00 uur	— Accutorr	14	0,64	< 0,05

7.2.3. Plethysmografie en temperatuurmeting

Na de inloop fase en na de studieperiodes van 8 weken werden perifere haemodynamische metingen verricht. Met behulp van veneuze occlusie, plethysmografie (Periflow, Janssen Scientific Instruments, Beerse, België) werd de onderarmsdoorstroming (inclusief die van de hand) in rust en tijdens reactieve hyperaemie bepaald. Hyperaemie werd opgewekt door arteriële occlusie (systolische druk + 10 mm Hg) gedurende 5 minuten. De metingen werden verricht in een rustige, temperatuur- en vochtigheidsgraad-stabiele kamer (97, 201). Voor een uitvoerige beschrijving van de Periflow wordt verwezen naar hoofdstuk 4. Tevens werd de veneuze distensibiliteit van de onderarm bij opklimmende veneuze occlusiedrukken van 30 tot 60 mm Hg bepaald. De normaalwaarde voor veneuze distensibiliteit van armen bedraagt $8,0 \pm 1,62$ ml/mm Hg (301, 308).

De onderarmsvaatweerstand in rust en na hyperaemie werd berekend uit de volgende formule:

$$\frac{\text{gemiddelde arteriële bloeddruk (mmHg)}}{\text{onderarmdoorstroming (ml/min/100 ml weefsel)}}$$

en uitgedrukt in arbitraire eenheden (E), met als dimensie mmHg/ml/min.

7.2.4. Laboratoriumbepalingen

Voor de studie, aan het einde van de inlooperperiode en na 8 en 16 weken werd bloed afgenomen voor de bepaling van de volgende hematologische en biochemische parameters: haemoglobine, haematocriet, leukocytenaantal, differentiatie van leukocyten, trombocytenaantal, reticulocytenaantal, ureum, kreatinine, natrium, kalium, chloor, calcium, fosfaat, totaal eiwit, albumine, bilirubine, alkalisch fosfatase, glutaminaat-oxaalacetaat-transaminase (SGOT), glutaminaatpyruvaattransaminase (SGTP), gamma-glutamyltranspeptidasae (gamma-GT), lactaatdehydrogenase (LDH), cholesterol en triglyceriden. De bepalingen werden volgens gebruikelijke methoden uitgevoerd in het Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt, Rotterdam (hoofd: Prof. Dr. Leijnse). Tevens werd uit de monsters een ketanserinspiegel bepaald volgens de methode van Onckwou (281, dr. Woestenborgh, Janssen Pharmaceutica, Beerse, België).

7.2.5. Statistische analyse

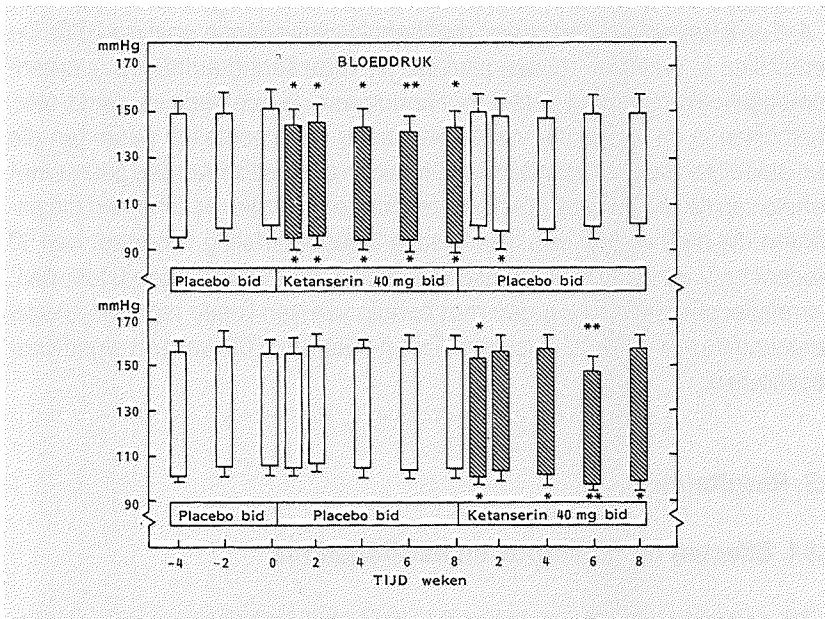
De gepresenteerde gegevens worden als gemiddelden \pm de standaardfout gegeven. Cross-over effecten en interactie van de geneesmiddelen na 2, 4, 6 en 8 weken werden getest met behulp van variantie-analyse (186). De verschillen in waarden tussen placebo en ketanseritherapie op overeenkomstige weken werden getest met behulp van de gepaarde student t-test. Verschillen in de incidentie van bijwerkingen en in aantallen patiënten die een duidelijke respons toonden op ketanserin of placebo werden getest met behulp van de chi-kwadraattest. Als responders werden beschouwd die patiënten die na 8 weken een diastolische bloeddrukdaling van meer dan 10 procent t.o.v. de waarde na 8 weken placebo (LSH-meting liggend) toonden. Correlatiecoëfficiënten werden met behulp van een lineair regressiemodel berekend op een HP-33C calculator. Een p-waarde $< 0,05$ werd als significant beschouwd.

7.3. Resultaten

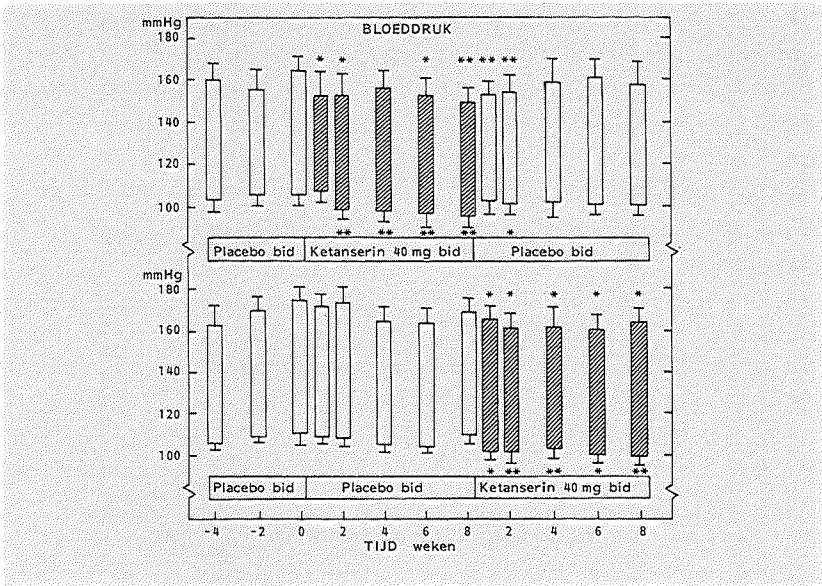
7.3.1. Effecten op bloeddruk en hartfrequentie

Na onttrekken van therapie werd in beide behandelingsgroepen slechts een geringe stijging van de bloeddruk gezien. De bloeddrukken gemeten met de London School of Hygiene manometer (LSH) en gemeten met de automaat daalden tijdens ketanserin toediening in gelijke mate (figuur 7.1 en

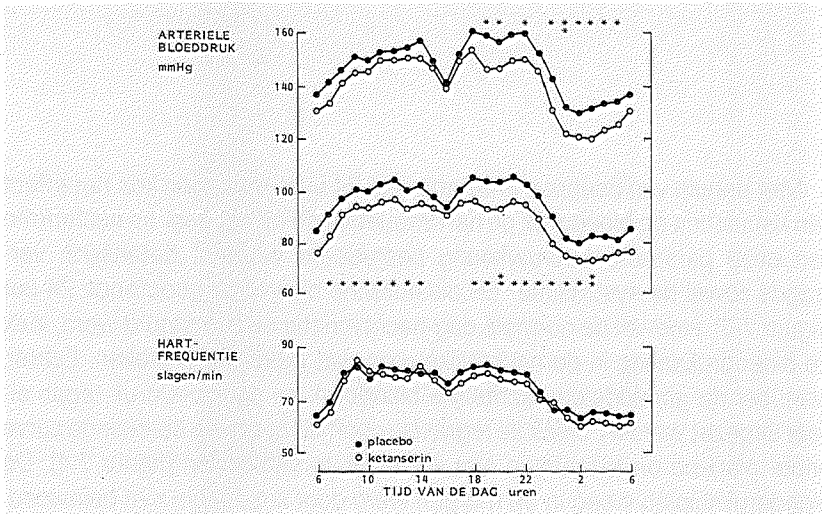
7.2). Vergeleken met de laatste meting van de placebo inloofphase werd vanaf de eerste week een duidelijke bloeddrukdaling waargenomen. De ketanserin-placebo groep gaf de mogelijkheid om de effecten van staken van ketanserintherapie te bestuderen. Na vier weken placebo was de bloeddruk weer langzaam op haar uitgangswaarde teruggekeerd, zonder dat sprake was van een zogenaamde rebound-fenomeen. Door variantie-analyse toe te passen op beide behandelingsmodaliteiten kon worden aangetoond dat na vier weken geen interactie tussen actieve- en placebo medicatie op de gemiddelde arteriële bloeddruk aanwezig was: T-waarde voor 1,2,4,6 en 8 weken respectievelijk 3, 3.43, 2.42, 1.10, 1.18, en 1.48. Hierdoor was het mogelijk de bloeddruk en hartfrequentiegegevens te combineren voor de gehele groep en effecten van placebo en ketanserin na overeenkomstige weken te vergelijken (tabel 7.3). Het bloeddrukverlagend effect van ketanserin bleek na zes weken significant te verschillen van placebo zowel met de LSH als de automaat gemeten. De daling in staande systolische- en diastolische bloeddruk bedroeg na acht weken ketanserin respectievelijk 3 en 7 procent, vergeleken met 4 en 6 procent voor de liggende bloeddrukken. De stijging in hartfrequentie na staan (ongeveer 10 slagen per minuut) werd niet door ketanserin veranderd, hetgeen het uitblijven van orthostatische hypotensie kan verklaren.



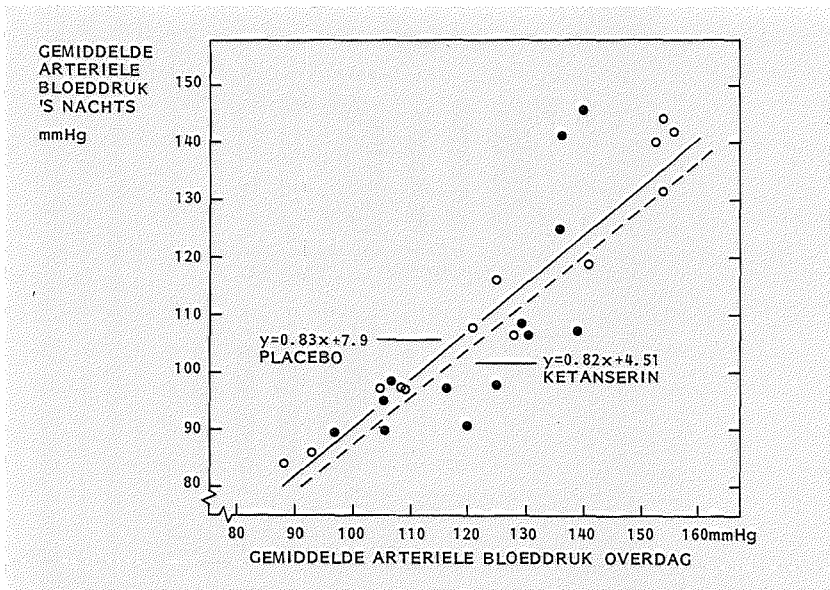
figuur 7.1. Effecten van ketanserin en placebo op de bloeddruk, gemeten met de London School of Hygiene Sphygmomanometer (LSH), bij 24 patiënten met essentiële hypertensie. * $p < 0,05$ en ** $p < 0,01$, vergeleken met einde inloofphase (week 0)



figuur 7.2. Effecten van ketanserin en placebo op de bloeddruk, gedurende 1 uur gemeten met een bloeddrukautomaat (Accutorr), bij 24 patiënten met essentiële hypertensie. * $p < 0,05$ en ** $p < 0,01$, vergeleken met einde inloophase (week 0)



figuur 7.3. Effecten van ketanserin (open punten) en placebo (gesloten punten) op bloeddruk en hartfrequentie, zoals vastgelegd m.b.v. continue 24-uurs intra-arteriële bloeddrukregistratie, bij 18 patiënten met essentiële hypertensie. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$



figuur 7.4. De invloed van ketanserin (40 mg bid) op de gemiddelde arteriële bloeddruk overdag en 's nachts bij 18 patiënten met essentiële hypertensie. De lijn die de verhouding tussen dag- en nachtbloeddruk weergeeft is onder ketanserin niet verschillend van die onder placebo.

Met behulp van continue intra-arteriële 24 uurs-metingen kon het effect van ketanserin op bloeddruk en hartfrequentie en op het dag- en nachtritme van deze parameters nauwkeurig bestudeerd worden. Ketanserin verlaagde zowel de systolische- als diastolische bloeddruk gedurende 24 uur (figuur 7.3). Hoewel de normale dag-nachtvariatie niet verstoord werd, leek de bloeddrukdaling in de nachtelijke uren wat meer uitgesproken. Echter, wanneer de gemiddelde nachtelijke bloeddruk en dagbloeddruk tegen elkaar uitgezet werden, bleek de regressie coëfficiënt van de berekende curve onder placebo en ketanserin niet wezenlijk te verschillen (figuur 7.4). De bloeddrukstijging vroeg in de morgen werd door ketanserin niet beïnvloed. De geringe daling in bloeddruk rond 15.00 uur representeert het "middagslaapje" tijdens het rustuur in het ziekenhuis. De gemiddelde 24 uurs bloeddrukdalingen van ± 7 procent na ketanserin gemeten met de intra-arteriële methode kwamen goed overeen met die gemeten met de non-invasieve methoden.

Tabel 7.3. Effecten van ketanserine en placebo op bloeddruk en hartfrequentie bij 24 patiënten met essentiële hypertensie.

	Run-in		Placebo			Ketanserine		
	0	4	4	6	8	4	6	8 weken
LSH								
liggend								
systolische bloeddruk (mmHg)	158±4	168±5	164±6	162±5	164±6	158±5	158±5	158±5*
diastolische bloeddruk (mmHg)	105±3	107±3	104±2	101±2	104±3*	99±3*	99±2**	98±2*
hartfrequentie (sl/min)	71±2	72±2	73±2	71±2	73	72±2	70±2	70±2
staand								
systolische bloeddruk (mmHg)	153±5	160±5	160±5	156±5	158±5	157±5	154±5	154±4
diastolische bloeddruk (mmHg)	104±4	109±3	107±4	104±3	112±3	104±3	102±2	104±2***
hartfrequentie (sl/min)	79±3	82±2	81±2	81±2	84±2	82±3	80±2	80±2
Accutorr (1 uur liggend)								
systolische bloeddruk (mmHg)	151±4	149±4	152±4	152±4	152±5	148±5	144±4***	149±4
diastolische bloeddruk (mmHg)	97±2	101±3	102±3	100±2	101±3	96±2**	95±2***	95±2***
hartfrequentie (sl/min)	71±3	74±2	74±2	73±2	72±2	71±2	71±2	71±2

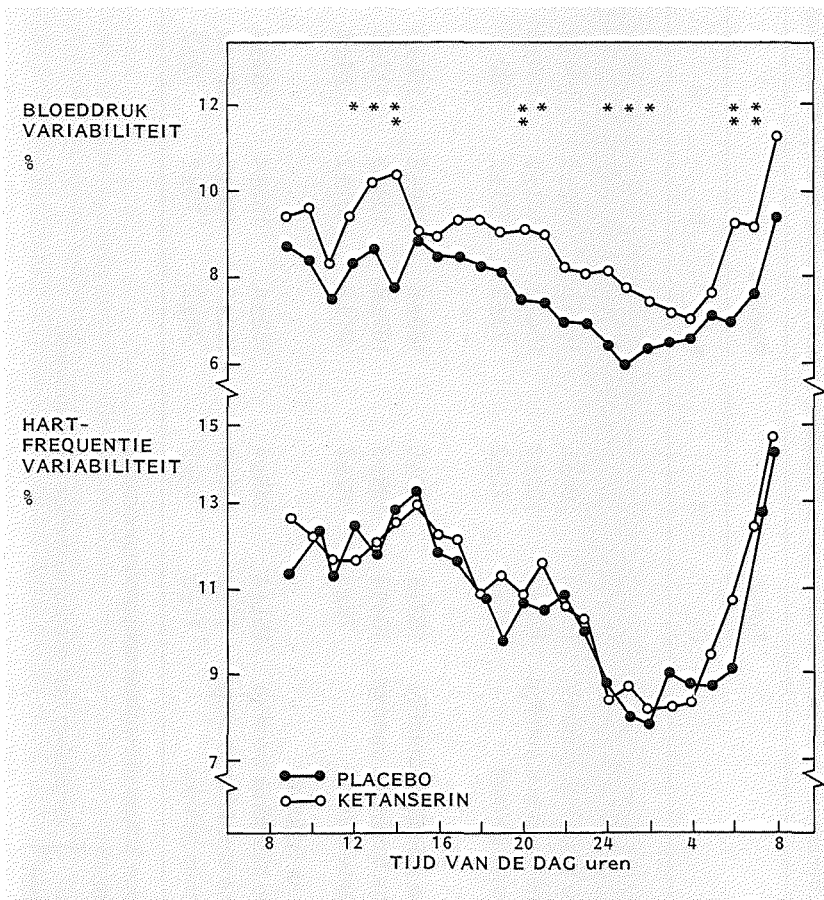
LSH = London School of Hygiene sphygmomanometer

* $p < 0,05$
 ** $p < 0,01$
 *** $p < 0,001$

} vergeleken met overeenkomstige placebo-week

De effecten van ketanserin op bloeddrukvariabiliteit en hartfrequentievariabiliteit lopen merkwaardigerwijs niet parallel (figuur 7.5). De 24-uurs bloeddrukvariabiliteit nam onder ketanserin toe van $7,9 \pm 1,2\%$ (placebo) naar $9,3\% \pm 1,6\%$ ($p < 0,001$), terwijl de hartfrequentievariabiliteit niet significant veranderde.

Negen van de 24 patiënten (37,5%) toonden na 8 weken ketanserinbehandeling een diastolische bloeddrukdaling van meer dan 10% uitgaande van de bloeddruk gemeten tijdens de placebofase. Uitgaande van de bloeddruk ten tijde van randomisatie konden elf patiënten (46%) op ketanserin, en drie patiënten (12%) op placebo als responders worden gekarakteriseerd.



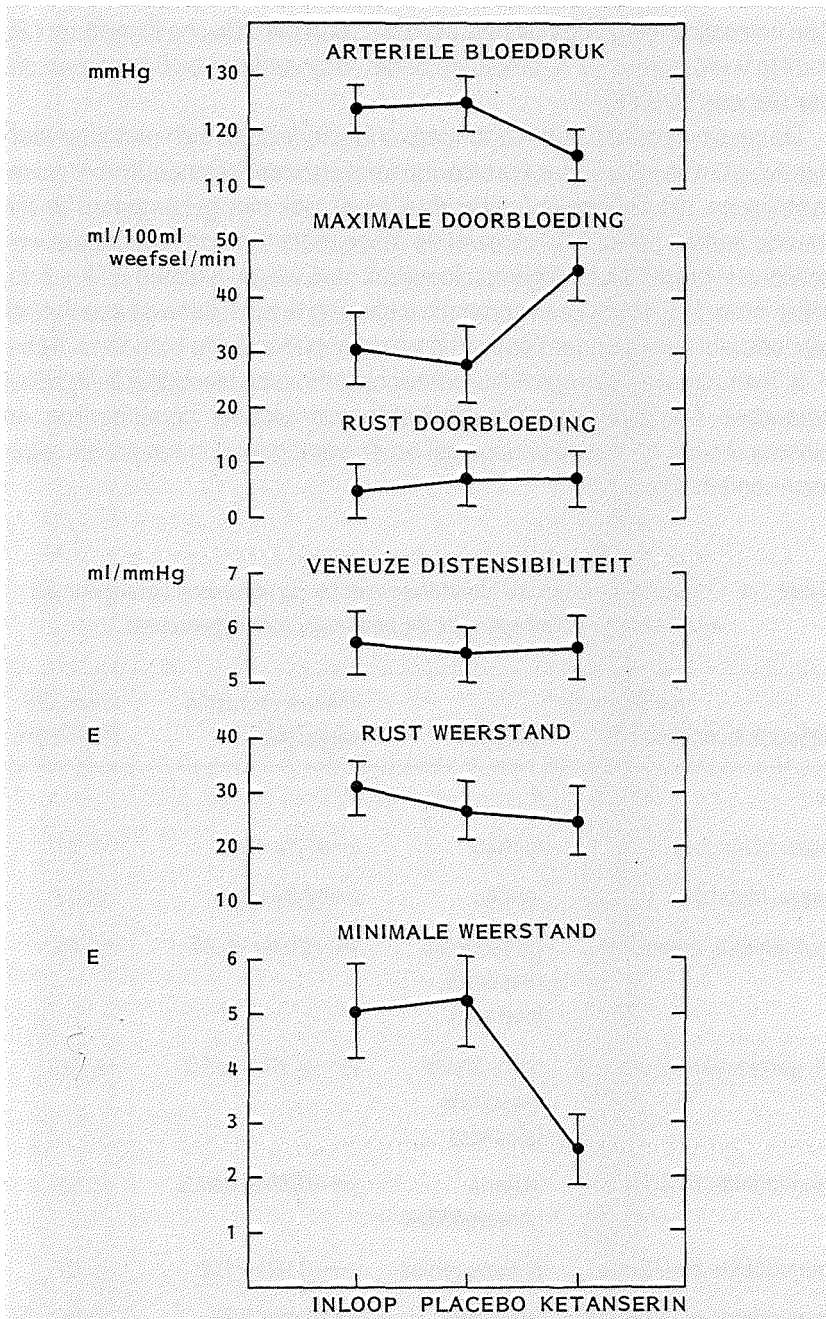
figuur 7.5. De effecten van ketanserin en placebo op bloeddruk- en hartfrequentievariabiliteit bij 18 patiënten met essentiële hypertensie. De lange termijn bloeddruk variabiliteit nam toe onder ketanserin.

Een normalisering van de bloeddruk, d.w.z. een diastolische bloeddruk < 95 mmHg werd bereikt bij 11 patiënten onder ketanserin en bij 6 patiënten onder placebo ($p < 0,05$).

De responders- en non-responders onderscheidden zich niet naar leeftijd: $52 \pm 0,4$ vs. 47 ± 2 jaar. De bloeddrukdaling onder ketanserin voor zowel systolische- als diastolische bloeddruk bleek ook niet gecorreleerd te zijn met de leeftijd (tabel 7.4). Hoewel de responders- en non-responders verschilden in gemiddelde uitgangsbloeddruk na 8 weken placebo (130 ± 8 vs. 118 ± 3 mm Hg), bleek geen correlatie aanwezig te zijn tussen de absolute of percentuele daling onder ketanserin en de onbehandelde bloeddruk (tabel 7.4). Evenmin was een correlatie aantoonbaar tussen bloeddrukdaling door ketanserin enerzijds en uitgangswaarde van plasma noradrenaline en plasma renine, de ketanserinspiegel en de verandering in het lichaamsgewicht anderzijds.

Tabel 7.4. Correlaties tussen de bloeddrukrespons op chronisch ketanserin en verschillende parameters bij 24 patiënten met hypertensie.

parameters		lineaire regressie	correlatie
bloeddrukverandering	variabele	vergelijking	coëfficiënt
x	y		
syst. bloeddruk	leeftijd	$y = 47,1x - 0,4$	0,37
diast. bloeddruk	leeftijd	$y = 46,8x + 0,4$	0,33
gemiddelde bloeddruk	gemiddelde bloeddruk (placebo)	$y = -25,6x - 0,25$	-0,45
% gemiddelde bloeddruk	gemiddelde bloeddruk (placebo)	$y = -0,79x + 121,2$	-0,38
gemiddelde bloeddruk	plasma noradrenaline	$y = -0,86x + 292,5$	-0,07
gemiddelde bloeddruk	plasma renine	$y = -0,07x + 11,9$	-0,07
gemiddelde bloeddruk	ketanserin spiegel	$y = 70,2x + 1,05$	0,28
gemiddelde bloeddruk	lichaamsgewicht	$y = -4,34x + 1,42$	-0,03



Figuur 7.6. Haemodynamische veranderingen, gemeten aan de onderarm m.b.v. veneuze occlusie plethysmografie, bij 20 patiënten met essentiële hypertensie, zonder therapie en na placebo en ketanserine.

7.3.2. Perifere haemodynamische effecten

Bij 21 patiënten werden de effecten van ketanserin op onderarms doorbloeding en veneuze distensibiliteit bestudeerd. De zogenaamde maximale flow, geïnduceerd door 5 minuten ischaemie met spierarbeid werd bij 10 patiënten gemeten. In figuur 7.6. zijn de verzamelde gegevens weergegeven. Dankzij gestandaardiseerde meetomstandigheden bleken rustflow, peak-flow en veneuze distensibiliteit goed reproduceerbaar te zijn. Ketanserin had geen invloed op de rustflow en de veneuze distensibiliteit. De berekende vaatweerstand daalde van $27,3 \pm 3,0$ naar $24,7 \pm 2,9$ E, het verschil was niet significant. De maximale flow nam toe van $28,6 \pm 4,6$ naar $48,3 \pm 2,7$ ml/100 ml weefsel/min ($p < 0.01$). De daarbij berekende weerstand daalde van $5,4 \pm 1,0$ naar $2,6 \pm 0,2$ E ($p < 0.01$).

7.3.3. Biochemische- en haematologische effecten

Om een indruk te krijgen over de nierfunctie werd naast bepaling van ureum, kreatinine en urinezuur, de endogene kreatinineklaring bepaald. Ketanserin had geen nadelige effecten op de nierfunctie. Bij één patiënt werd een verslechtering van de nierfunctie onder ketanserin waargenomen met een daling van de kreatinineklaring van 163 naar 117 ml/min. In de placebo-fase zette deze verslechtering zich voort. Patiënt bleek te lijden aan dubbelzijdige pyelonefritis. De nierfunctie heeft zich uiteindelijk gestabiliseerd op een niveau van 56 ml/min. De kreatinineklaring voor de hele groep was na 8 weken placebo significant lager dan na 4 weken placebo tijdens de inloophase (tabel 7.5). De natrium en kaliumexcretie veranderde niet tijdens ketanserin.

Om een indruk te krijgen over veranderingen in het serotonine metabolisme werd de excretie van 5-HIAA gemeten. Deze daalde niet onder ketanserintherapie.

Twee patiënten hadden bij de aanvang van de studie een geringe albuminurie (< 1 gr/24 uur). De albuminurie nam onder ketanserin niet toe. Glucosurie, die bij twee patiënten bestond bij aanvang van de studie was na 8 weken ketanserin verdwenen. Bloedsuikerspiegels waren bij deze patiënten niet verhoogd.

Er trad onder ketanserin geen verschuiving op in natrium- en kaliumconcentraties. Bij twee patiënten werd een laag serum kalium (3,3 mmol/l) gedurende de gehele observatieperiode waargenomen. Bij één patiënt werd na vier weken ketanserin een passagere verhoging in het serum calcium van 2,50 naar 2.71 mmol/l waargenomen, met een gelijktijdige stijging in het totaal eiwit en albumine. Het is aannemelijk dat het geïoniseerde calcium niet

Tabel 7.5. Cumulatieve gegevens van biochemische en haematologische parameters onder ketanserin en placebotherapie bij 24 patiënten met essentiële hypertensie

Parameter	Run-in		Placebo		Ketanserin		eenheden
	0	4	4	8	4	8 weken	
— Nierfuncties							
ureum	5,3±0,3	5,2±0,3	5,3±0,3	5,4±0,3	5,2±0,4	5,5±0,4	mmol/l
kreatinine	92±4	91±5	99±6	93±5	92±5	92±6	µmol/l
urinezuur	.36±0,2	.36±0,2	.35±0,2	.36±0,2	.35±0,2	.35±0,2	mmol/l
kreatinineklaring		136±14		112±13		118±17	ml/min
— Urineanalyse							
natriumexcretie		150±19		133±13		144±15	mmol/24 hr
kaliumexcretie		85±8		78±8		85±10	mmol/34 hr
5HIAA excretie		35±5		38±4		44±5	mmol/24 hr
albuminurie		2×		2×		2×	
glucosurie		2×		2×			
— Electrolyten							
natrium	143±1	142±1	143±1	142±1	143±1	143±1	mmol/l
kalium	4,6±0,1	4,1±0,1	4,5±0,1	4,0±0,1	4,5±0,1	4,1±0,1	mmol/l
chloride	105±0,3	104±0,3	105±0,3	104±0,3	104±0,3	104±0,3	mmol/l
calcium	2,31±0,04	2,29±0,03	2,40±0,05	2,28±0,03	2,31±0,04	2,29±0,03	mmol/l
fosfaat	0,97±0,05	1,01±0,05	1,00±0,04	1,03±0,03	1,01±0,03	1,02±0,03	mmol/l

— Leverfuncties							
bilirubine	7±1	6±1	6±1	8±1	7±1	7±1	mmol/l
alkalische fosfatase	33±2	31±2	33±2	34±2	32±2	33±2	E/l
SGOT	20±2	21±3	19±3	19±1	18±2	19±1	E/l
SGPT	17±2	18±2	24±6	16±2	17±2	18±3	E/l
LDH	224±9	217±10	225±10	223±8	228±12	221±11	E/l
Gamma-GT	20±7	17±2	21±6	18±3	17±3	14±2	E/l
— Cholesterol en eiwit							
cholesterol	5,4±0,7	5,5±0,2	5,5±0,2	5,5±0,2	5,6±0,2	5,3±0,2	mmol/l
totaal eiwit	70±1	67±1	71±1	67±1	70±2	67±1	gr/l
albumine	43±1	42±1	43±1	41±1	42±1	40±1	gr/l
— Haematologie							
haemoglobine	9,0±0,1	9,1±0,1	9,6±0,1	9,1±0,1	9,3±0,1*	8,9±0**	mmol/l
haematocriet	.45±0,1	.44±0,1	.46±0,01	.44±0,1	.45±0,1*	.43±0**	mmol/mmol
leucocyten	6,5±0,4	6,2±0,6	6,8±0,6	6,1±0,5	6,3±0,5*	6,4±0,6	×10/l
Trombocyten	229±11	219±11	228±12	209±10	227±10	222±10	×10/l
eosinofielen	98±19	114±21	116±22	110±23	117±23	104±24	×10/l
reticulocyten	15±1	15±2	14±1	13±2	13±1	15±2	×10/l
— Ketanserinpiegel							
	—	—	—	—	70,8±5,1 (23,8-113)	71,9±7,1 (14,5-160)	ng/ml

* p < 0,05 vergeleken met 4 weken placebo

** P < 0,01 vergeleken met 4 weken ketanserin

wezenlijk veranderde. In de gehele groep waren geen aanwijzingen voor een verminderde fosfaatklaring onder invloed van ketanserin.

De biochemische parameters van de leverfunctie fluctueerden nogal, echter zonder significant te verschillen. Bij twee patiënten waren milde leverfunctiestoornissen waarneembaar gedurende de gehele studie; deze patiënten gebruikten meer dan 2 eenheden alcohol per dag. Onder ketanserin werden geen biochemische afwijkingen gevonden die zouden kunnen wijzen op het ontstaan van cholestatische hepatitis (tabel 7.5).

Geen der patiënten leed aan hypercholesterolaemie of hyperlipaemie. Het lipidespectrum werd in deze studie niet bepaald. Het totaal cholesterol veranderde niet onder ketanserin (tabel 7.5).

Na vier weken ketanserintherapie trad een significante daling op in haemoglobine, haematocriet en leucocytenaantal ten opzichte van vier weken placebo. Deze daling is heel wel te verklaren door vochtretentie. Er hebben zich geen gevallen van anaemie, thrombopenie of leucopenie voorgedaan. Bij geen der patiënten trad een eosinophilie of een verandering van reticulocytenaantal op (tabel 7.5).

7.3.4. Bijwerkingen

Door middel van gericht vragen en naar aanleiding van spontaan geuite klachten werden de subjectieve bijwerkingen onder ketanserin en placebo gescoord. In deze paragraaf zullen ook de gegevens verkregen uit 12-afleidingen ECG's en het effect op het lichaamsgewicht besproken worden. In de studie werd afgezien van regelmatige beoordeling van de oogfundus, omdat geen der patiënten ernstige fundopathie bleek te hebben. De therapietrouw was ondanks de lange duur van de studie voortreffelijk. Alle patiënten op twee na bleken de voorgeschreven hoeveelheid tabletten tot zich te nemen met een gemiddelde intake van $95,2 \pm 2,1$ procent. Deze therapietrouw bleek eveneens uit de ketanserinspiegels (tabel 7.5.), waarbij alleen de twee falende patiënten lagere ketanserinspiegels scoorden: 14,5 en 2,3 ng/ml. De overige patiënten bleken een ketanserinspiegel op te bouwen in de optimaal werkzame range. De twee bovengenoemde patiënten hadden vanaf week 4 in verband met subjectieve bijwerkingen de dosering gehalveerd of tijdelijk gestaakt.

Alle bijwerkingen die in de studieperiode vermeld werden zijn gecategoriseerd in tabel 7.6. Naar bijwerkingen werd gericht gevraagd in de zin van: hebt u veranderingen bemerkt tijdens het gebruik van medicijnen? Werd u in uw dagelijkse activiteiten belemmerd door slaperigheid, duizeligheid, hoofdpijn of verminderd gezichtsvermogen? Hebt u dikke enkels of voeten gekregen? Geen der patiënten verzocht om staken van de studie naar aanlei-

Tabel 7.6. Alle gemelde of waargenomen bijwerkingen onder ketanserin en placebotherapie.

Cluster	Ketanserin		Placebo	
	n	%	n	%
Centraal zenuwstelsel		67		67
Slaperigheid	9		5	
Sufheid	8		6	
Moe	3		5	
Onrust	2		4	
Depressie	0		1	
Verwardheid	1		0	
Tremor	1		0	
Perifeer zenuwstelsel + spieren		52		67
Hoofdpijn	4		10	
Wazig zien	2		1	
Bot of spierpijn	4		4	
Tintelingen	0		2	
Huid + slijmvliezen		43		29
Droge mond	7		4	
Allergie of jeuk	2		3	
Zweten	1		1	
Maagdarmsstelsel		14		24
Zuurbranden	2		3	
Diarree	2		2	
Hart en vaatstelsel		15		12
Hartkloppingen	2		4	
Angina pectoris	1		0	
Enkeloedeem	4		1	
Koude extremiteiten	0		1	
Warme extremiteiten	1		0	
Luchtwegen		10		5
Keelpijn	1		0	
Neusbloeding	1		1	
Urinewegen		5		
Pollakisurie	1		0	

n = aantal klachten in die periode

% = % patiënten met klachten gedurende die periode

ding van de gemelde klachten. De incidentie van bijwerkingen tijdens de gehele periode van ketanserin en placebotherapie was niet significant verschillend. Opvallend hoog (67 procent) scoorde in deze groep patiënten zowel tijdens placebo als ketanserin de zogenaamde centrale bijwerkingen te weten slaperigheid, sufheid, verminderde alertheid en moeheid. De meest voorkomende bijwerkingen onder ketanserin namen overigens in de loop van de behandeling af.

Enkeloedeem werd door 17 procent van de patiënten tijdens ketanserin en 13 procent tijdens placebotherapie gemeld. Er hebben zich geen perioden van manifeste decompensatio cordis voorgedaan bij de patiënten, hoewel onder ketanserin een gewichtstoename van 1,3 kg voor de hele groep werd waargenomen. In de ketanserin-placebogroep was deze toename het fraaist te zien: na acht weken ketanserin steeg het gewicht van $72,4 \pm 3,1$ naar $73,4 \pm 3,2$ kg ($p < 0,05$) en daalde weer naar $72,2 \pm 3,5$ kg na acht weken placebotherapie.

De twaalf-afleidingen ECG's toonden aan het begin van de studie bij 9 patiënten linker ventrikelhypertrofie, die na ketanserin niet essentieel veranderd was. Onder ketanserintherapie werd tweemaal een verlenging van QT-tijd (tot 560 ms) gevonden die bij één van de patiënten reversibel bleek na placebotherapie. Overigens werd geen verhoogde incidentie van atriale of ventriculaire ritmestoornissen of geleidingsstoornissen onder ketanserin gezien. Er heeft zich bij één patiënt tijdens de ketanserin behandeling een periode van angina pectoris voorgedaan, echter het ECG toonde geen karakteristieke afwijkingen.

7.4 Discussie

7.4.1. Bloeddrukrespons

In deze studie kon worden aangetoond dat monotherapie met een vaste dosis ketanserin, 2 x 40 mg, gedurende acht weken, vergeleken met placebo de bloeddruk bij patiënten met essentiële hypertensie kan verlagen en dat dit effect vrijwel de volledige 24 uur van de dag bestrijkt. De hartfrequentie veranderde in onze groep niet. De bloeddrukdaling bedroeg ongeveer 7 procent vastgesteld met drie verschillende methoden van bloeddrukmeting. Systolische- en diastolische bloeddruk daalden in gelijke mate.

Onze studieresultaten komen goed overeen met gegevens uit de literatuur (156, 174, 175, 278, 329, 362). De matige bloeddrukrespons in de door ons bestudeerde groep is niet te verklaren door onvoldoende inname van actieve medicatie. De therapietrouw was met 95% hoog te noemen en bovendien lagen de ketanserinspiegels in de werkzame range. Hoewel de dose-

ring van 2 x 40 mg op grond van de halfwaarde tijd en behaalde medicatiespiegel voldoende moet zijn om effect te kunnen sorteren, zouden de resultaten wellicht verbeterd zijn als sommige patiënten een hogere dosering ketanserin hadden gekregen.

In onze groep werd de bloeddrukdaling vergeleken met de effecten van placebo, hetgeen de geringere respons dan die gevonden bij open of niet placebo-gecontroleerde studies voor een deel kan verklaren (14, 55, 193, 194, 407).

Tevens werd bij poliklinische metingen een rustfase van vijftien minuten tot één uur in acht genomen, hetgeen de uitgangsbloeddruk met ongeveer 10 mmHg kan doen dalen (253). Onze groep patiënten bleek slechts milde tot matige hypertensie te hebben op grond van de intra-arteriële metingen, waarbij een 6-uurs gemiddelde bloeddruk in de ochtenduren van $149 \pm 2/98 \pm 2$ mmHg werd vastgesteld. Deze waarden liggen onder de uitgangswaarden zoals beschreven bij de meeste andere studies. Het is bekend dat over het algemeen het bloeddrukverlagend effect van een geneesmiddel geringer is, naarmate de uitgangsbloeddruk lager is.

Het aantal patiënten dat reageerde met een meer dan 10% daling van de bloeddruk of normalisering van de diastolische bloeddruk op ketanserin is in een aantal gecontroleerde studies vergeleken met andere antihypertensieve middelen zoals metoprolol, pindolol en hydrochlorothiazide (156, 176). Het percentage responders op monotherapie ketanserin (65-68%) bleek niet wezenlijk te verschillen van het percentage patiënten dat reageert op monotherapie met andere antihypertensieve middelen (40-68%).

De effecten van ketanserin, gemeten met de 24-uurs intra-arteriële meting, tonen een opmerkelijke overeenkomst, voor wat betreft beïnvloeding van het dag-nachtritme van de bloeddruk en effect op de bloeddrukstijging in de vroege morgen, vergeleken met andere antihypertensieve middelen (28, 127, 313).

De invloed van ketanserin op de lange termijn bloeddrukvariabiliteit verschilt van die, gevonden voor atenolol (253). Voor de toename van de bloeddrukvariabiliteit, maar het ontbreken van een effect op de hartfrequentie variabiliteit van ketanserin is geen verklaring voorhanden. Centrale beïnvloeding die de sympathicus outflow bevordert of remt is mogelijk.

7.4.2. Bijwerkingen

De neveneffecten die wij in onze groep patiënten waarnamen waren mild van aard. Er hebben zich geen perioden voorgedaan van ritmestoornissen, decompensatio cordis, acute hartdoden of cerebrovasculaire accidenten. Orthostatische hypotensie werd niet waargenomen. In de literatuur wordt melding gemaakt van één patiënt die tijdens ketanserin therapie overleed; bij obductie werd een progressieve coronairsclerose vastgesteld (407).

Van de subjectieve bijwerkingen was de incidentie in vergelijking met de placebotherapie niet verschillend maar in beide groepen betrekkelijk hoog (± 50 procent). Onder langdurige placebotherapie komen klachten als moeheid en slapeloosheid (48 procent), oogbranden (40 procent) en huidafwijkingen (20) frequent voor (106). De bijwerkingen en uitvalspercentage onder ketanserin lijken dosis afhankelijk: boven de 60 mg per dag neemt de incidentie hiervan duidelijk toe (14, 176). De bijwerkingen met name de sedatie, doen sterk aan centrale effecten denken.

De biochemische parameters veranderden niet ten opzichte van placebo; met name de nierfunctie bleef stabiel onder ketanserin. Bij twee studies met in totaal 23 patiënten werd met behulp van infusie klaringstechnieken de glomerulaire filtratiesnelheid en de renale bloeddorstrooming bepaald, die na chronisch ketanserin niet veranderden (96, 278). Twee studies daarentegen maken melding van een lichte daling in de endogene kreatinineklaring tijdens ketanserin therapie (12, 407). In de laatst geciteerde studie was het ongunstig effect op de nierfunctie na drie maanden verdwenen.

De invloed op cholesterol en triglyceride gehalte was gunstig, hetgeen ook de ervaring van anderen is (298). In hoeverre deze effecten op lange termijn blijven bestaan is nog onderwerp van studie. De overige biochemische variabelen die bepaald werden toonden geen consistente verandering, met name werden geen aanwijzingen voor cholestatische hepatitis vastgesteld. Bij geen der patiënten werd een leucopenie of thrombopenie waargenomen. De tijdelijke daling van leucocyten en trombocyten aantal na vier weken ketanserin lijkt niet van belang en niet immunologisch bepaald.

7.5. Samenvatting

Chronisch ketanserin als monotherapie in een gefixeerde dosis van 2 x 40 mg bleek in staat de bloeddruk bij patiënten met milde tot matige hypertensie te verlagen. De bloeddrukdaling vergeleken met placebotherapie zowel systolisch als diastolisch bedroeg 5 tot 10 procent. Het effect van 2 x 40 mg ketanserin was zowel overdag als 's nachts aantoonbaar met behulp van continue intra-arteriële metingen. Ook niet-invasieve metingen met een sphygmomanometer en één uurs metingen met een bloeddrukautomaat toonden een effect op de poliklinische liggende en staande bloeddrukken van ± 7 procent. De hartfrequentie in rust en na staan veranderde niet. De response rate, gedefinieerd als een diastolische bloeddruk daling van meer dan 10 procent of een bereiken van de diastolische bloeddruk onder de 95 mm Hg, onder monotherapie ketanserin bedroeg 66 procent, hetgeen overeenkomt met getallen gevonden voor andere hypertensiva. Er kon geen correlatie worden aangetoond tussen bloeddruk respons enerzijds, en leeftijd, initieel plasmanoradrenaline, initiele plasmarenineconcentratie, ketanserinspiegel en uitgangsbloeddruk anderzijds. De bloeddrukdaling tijdens de nachturen was het meest duidelijk. Ketanserin veroorzaakte een toename van de bloeddruk variabiliteit over lange termijn terwijl de hartfrequentie variabiliteit niet veranderde. Een verklaring voor dit fenomeen is niet voorhanden.

Chronisch ketanserin verlaagde de bloeddruk bij deze hypertensieve patiënten door voornamelijk arteriële vaatverwijding, onder andere aangetoond in de onderarm. De veneuze tonus gemeten met behulp van veneuze distensibiliteit van de onderarm veranderde niet.

De bijwerkingen van ketanserin waren gering. Er werd een significante stijging in lichaamsgewicht onder chronische ketanserin waargenomen, verklaard door water- en zoutretentie ten gevolge van de arteriële vaatverwijding.

Verskillende biochemische variabelen waaronder nierfuncties, electrolyten en cholesterol veranderden niet na ketanserin. De subjectieve klachten waren mild en hadden vooral betrekking op hoofdpijn en sedatie. De incidentie verschilde niet significant van placebotherapie. Orthostatische hypotensie kwam onder ketanserin niet voor.

Hoofdstuk 8

Samenvatting en conclusies

8.1. Serotonine en hypertensie

Het menselijk organisme beschikt over een effectief klaringsmechanisme voor vrij serotonine door middel van opname en opslag door trombocyten en opname en metabolisatie door endotheelcellen van lever, long en perifere vaten. De concentratie van serotonine in bloed is dermate laag, dat op grond daarvan geen fysiologische effecten verwacht mogen worden. De effecten van serotonine kunnen derhalve alleen daar gerealiseerd worden, waar hoge concentraties voorkomen. Dit is onder andere het geval bij de vaatwand. De sleutel voor een eventuele rol van serotonine bij hypertensie is de trombocyt. Het slot waarop deze sleutel past is de endotheelcel en soms de gladde spiercel in de vaatwand.

Het serotonine dat opgeslagen is in de trombocyt komt vrij wanneer trombocytenaggregatie optreedt. Het vrijgekomen serotonine op zijn beurt zet andere trombocyten weer aan tot aggregatie en secretie van onder andere arachnidonzuur. Bovendien versterkt serotonine de aggregatie, geïnduceerd door ADP, collageen en adrenaline: amplificatie. Het intacte endotheel zorgt ervoor dat de trombocytenaggregatie niet een zich eindeloos versterkend proces is. Door synthese van prostacycline, door afbraak van ADP en door metabolisatie van serotonine wordt verdere plaatjesaggregatie afgeremd (388).

Vooral dankzij werk van Furchgott en medewerkers is aangetoond dat de endotheelcel reacties van de gladde spiercel op circulerende vasoactieve stoffen kan moduleren. Het intacte endotheel lijkt een belangrijke rol te spelen in de dilaterende werking van stoffen als arachidonzuur, ADP, ATP en bradykinine en de endotheelcel is tevens in staat vasodilaterende stoffen te synthetiseren. De relaxatie door endotheel kan zo krachtig zijn, dat de constrictie op stoffen vrijkomend uit trombocyten als serotonine of thromboxane-A₂ geheel te niet gedaan wordt. In het verlengde daarvan ligt de waarneming dat vaten, ontdaan van hun endotheel, op deze stoffen reageren met een zeer krachtige vasoconstrictie. De dilaterende respons is niet te beïnvloeden met serotonine-2-receptor antagonisten zoals ketanserin. Daarentegen is de vasoconstrictie die optreedt na plaatjesaggregatie wel te remmen met deze categorie serotonine antagonisten. Met name de coronair arterieën en oppervlakkige huidvenen zijn buitengewoon gevoelig voor contracties door trombocyten veroorzaakt en worden nog versterkt door endotheeldestructie, koude en ischaemie. Het lijkt niet moeilijk in te zien dat bij ziekten, waarbij het endotheel gedestruëerd of niet meer normaal functioneert, de beschermende werking tegen de gevolgen van trombocytenaggregatie wegvalt. Schade aan het endotheel komt o.a. voor bij hypercholesterolaemie, hypertensie, diabetes, chronisch nicotinegebruik en atherosclerose.

Bij deze ziektebeelden is een persisterende trombocytenaggregatie met voortdurende uitstorting van serotonine aangetoond. In deze vaten kan serotonine maximaal, niet gehinderd door intact endotheel, zijn schadelijke effecten van vasoconstrictie en fibrosering van de vaatwand ontplooiën.

Voor ongecompliceerde hypertensie is een sleutelfunctie van serotonine nog niet zo duidelijk weggelegd, hoewel enkele studies wel steun geven aan de "serotonine-hypothese". Zowel bij de hypertensieve patiënt als bij de hypertensieve rat is een versterkte vasoconstrictie na serotonine waargenomen, zowel vergeleken met normotensieve mensen of dieren als vergeleken met andere vasopressoren. Ook het amplificatie effect van serotonine is bij hypertensieve patiënten meer uitgesproken. Bovendien tonen de trombocyten van patiënten met hypertensie enkele typische afwijkingen, die het beste als "pre-activatie" omschreven kunnen worden. Men vond bij deze patiënten een verhoogde trombocytenaggregatie en een versnelde trombocyten turn-over, in combinatie met een verlaagd serotonine gehalte in de trombocyt. Deze gegevens suggereren een verhoogde en versnelde serotonine release bij patiënten met hypertensie (212).

In combinatie met de verlaagde re-uptake door plaatjes en verminderde metabolisatie door endotheel is het voorstelbaar dat de vaatwand bij patiënten met hypertensie aan een verhoogde concentratie vrij serotonine bloot staat. Met de daarop volgende versterkte vasoconstrictie is de basis voor de

ziekte hypertensie gelegd, namelijk verhoogde perifere vaatweerstand.

Naast deze perifere mechanismen kan serotonine ook via het centrale zenuwstelsel de bloeddruk beïnvloeden. Vooral bij de ratten is het ontstaan van hypertensie beschreven onder invloed van centrale serotonerge activatie. Deze pressor respons uit zich voornamelijk in een verhoogde sympathicotonus. Of deze mechanismen ook bij de mens een rol spelen bij het ontstaan van essentiële hypertensie is de vraag.

Serotonine kan ook het renine-angiotensine-aldosteron beïnvloeden en langs deze weg een rol spelen bij de regulatie van bloeddruk en het ontstaan van hypertensie.

Als het waar is dat serotonine bijdraagt tot de verhoogde vaatweerstand bij hypertensie, dan zouden serotonine antagonisten deze moeten verlagen. De eerste ervaringen op dit gebied waren echter teleurstellend, door het geringe antihypertensieve effect en de ernstige bijwerkingen van centrale aard.

"De klassieke" indeling van serotonine receptoren volgens Gaddum en Picarelli (141) berust op blokkade van de receptor door morfine of dibenylamine (M- en D-receptor). Door middel van radioligand-bindingsexperimenten uitgevoerd op rattehersenhomogenaten is in de tachtiger jaren een nieuwe indeling vastgesteld: 5-HT₁, 5-HT₂ en 5-HT₃-receptoren. De 5-HT₁-receptor is onder andere gelokaliseerd op de endotheelcel, en veroorzaakt de endotheel afhankelijke relaxatie.

De 5-HT₂-receptor is gelokaliseerd op de vasculaire spiercel, maar ook in het centrale zenuwstelsel, het hart en op de trombocyten. De vasoconstrictie op en de amplificatie van serotonine, alsmede trombocytenaggregatie worden via de 5-HT₂-receptor geïnitieerd. Voorheen waren studies naar de rol van serotonine bij hypertensie met behulp van serotonine antagonisten niet goed mogelijk omdat de gebruikte farmaca niet specifiek en niet selectief voor de serotonine receptoren bleken en niet zelden partieel agonistische eigenschappen bezaten. Met de ontwikkeling van een aantal selectieve en min of meer specifieke 5-HT₂-antagonisten waarvan ketanserin (R41468, Janssen Pharmaceutica Beerse, België) de eerste representant is, werd het mogelijk om deze middelen in te zetten bij de behandeling en bestudering van hypertensie.

Deze studie was gericht op de volgende vragen:

1. Wat is het antihypertensieve effect van acute en chronische ketanserin toediening?
2. Wat is het werkingsmechanisme van ketanserin?
3. Kunnen de studies met ketanserin bijdragen tot beantwoording van de vraag of serotonine een rol speelt bij het ontstaan of onderhouden van hypertensie?

8.2. Antihypertensieve effecten van ketanserin

8.2.1. Acute effecten

Bij 38 patiënten met essentiële hypertensie verlaagde ketanserin, 10 mg intraveneus, de arteriële bloeddruk met 16 ± 2 procent. De bloeddrukdaling was maximaal 3 tot 5 minuten na injectie en hield tot 2 uur na toediening aan. Bij 6 patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van respiratoire insufficiëntie daalde de bloeddruk met 11 ± 3 procent en bij 4 patiënten met autonome insufficiëntie 21 ± 2 procent.

De bloeddrukdaling werd begeleid door een geringe en tijdelijke toename van de hartfrequentie en hartminuutvolume. Gezien de parallele stijging van plasmanoradrenaline en renine ligt het voor de hand deze stijging uit activatie van de baroreceptor reflex te verklaren. De hartfrequentiestijging is voor de gegeven bloeddrukdaling echter opvallend gering, vergeleken met andere vaatverwijders. Dit zou verklaard kunnen worden door een verminderde baroreflex functie. De baroreflex gevoeligheid weergegeven door de daling in hartfrequentie volgend op de bloeddrukstijging na phenylephrineïnfusie, werd door ketanserin evenwel niet beïnvloed. Het patroon van de haemodynamische effecten van ketanserin past bij arteriële en veneuze vaatverwijding. De invloed op de veneuze tonus kan worden afgeleid uit de daling van de vullingsdrukken van de rechter- en linkerharthelft en uit de stijging van de veneuze distensibiliteit van de onderarm. Door de daling van de vullingsdrukken daalde uiteindelijk ook het hartminuutvolume, zodat het antihypertensieve effect van ketanserin berust op de combinatie van arteriële vaatverwijding en een geringe daling van het hartminuutvolume.

De vaatverwijding kon ook worden aangetoond in de nier, waarbij ondanks de bloeddrukdaling de bloeddorstrooming en glomerulaire filtratiesnelheid niet verminderde. De vaatverwijding aangetoond in de onderarm met behulp van plethysmografie was disproportioneel sterk. De drievoudige toename onder ketanserin kan verklaard worden door preferentiële toename van de hand- en vingerflow. De vaten in de hand en met name de arterioveneuze shunts zijn extreem gevoelig voor serotonine (398).

Door de gecombineerde arteriële en veneuze vaatverwijdende eigenschappen van ketanserin is ook naar toepassingsgebieden bij andere ziekten met verhoogde systeem of pulmonale vaatweerstand gezocht. Bij patiënten met hartfalen konden de sterk verhoogde totaal perifere vaatweerstand en hoge vullingsdrukken met behulp van ketanserin genormaliseerd worden.

Bij de patiënten met pulmonale hypertensie ten gevolge van acute respiratoire insufficiëntie, geassocieerd met toxisch infectieuze shock, had ketanserin een gunstige invloed op de pulmonale bloeddruk, pulmonale vaat-

weerstand en hartfrequentie. Ondanks systemische vaatverwijding werd een afname van de fysiologische shuntfractie voor zuurstof in de long waargenomen.

8.2.2. Chronische effecten

Bij 24 patiënten met essentiële ongecompliceerde hypertensie werden de effecten van twee maal daags 40 mg ketanserin bestudeerd in een dubbelblind, placebo gecontroleerde overkruisingsstudie.

De bloeddruk werd gemeten met behulp van de London School of Hygiene Sphygmomanometer, een bloeddrukautomaat waardoor semi-continue meting mogelijk was en met behulp van 24 uren ambulante continue intra-arteriële metingen. De meetmethoden kwamen voor wat betreft de bloeddrukken in de ochtenduren goed overeen en toonden een bloeddrukreductie voor zowel systolische- als diastolische druk van 4 respectievelijk 6 procent. De staande bloeddruk daalde in gelijke mate en er werd geen orthostatische hypotensie waargenomen. Zowel de hartfrequentie in rust als de hartfrequentie versnelling na 3 minuten staan werd door ketanserin niet beïnvloed.

Ketanserin had geen invloed op het dag-nachtritme van de bloeddruk en bleek in staat de bloeddruk het grootste deel van de dag te verlagen. De daling van de bloeddruk werd begeleid door een stijging van de bloeddrukvariabiliteit, terwijl ketanserin geen invloed bleek te hebben op de hartfrequentievariabiliteit. Deze gegevens kunnen wijzen op centrale serotonerge beïnvloeding van de bloeddruk. Ten gevolge van de arteriële vaatverwijding kan onder chronisch ketanserin vocht- en zoutretentie optreden. Het ontbreken van reflxtachycardie onder arteriële vaatverwijding door ketanserin kan verklaard worden door zogenaamde resetting van de baroreceptor. Ongeveer 2/3 van de patiënten met hypertensie repondeerde op ketanserin therapie. In onze serie werd geen correlatie aangetoond tussen de bloeddruk daling enerzijds en de initiële bloeddruk en leeftijd anderzijds. Echter in grotere series blijkt vooral de oudere groep patiënten met de hoogste bloeddruk de grootste respons op ketanserin te tonen.

De bijwerkingen van ketanserin lagen vooral op het gebied van het centrale zenuwstelsel: hoofdpijn, sedatie, duizeligheid en moeheid. Hoewel de incidentie van bijwerkingen boven de 60 mg per dag sterk toeneemt, werd in onze groep geen statistisch verschil in incidentie gezien tussen placebo en ketanserin therapie. De biochemische effecten waren nihil en toonden een gunstige invloed op nierfunctie, electrolyten en cholesterolgehalte.

8.3. Mechanisme van het bloeddrukverlagend effect van ketanserin

8.3.1. Perifere mechanismen

Ketanserin heeft zowel affiniteit voor de 5-HT₂ receptor als voor de α_1 -adrenerge receptor. Uit omvangrijke studies met geïsoleerde vaten bleek, dat ketanserin, door middel van 5-HT₂ receptor blokkade, in staat was de door serotonine veroorzaakte vasoconstrictie te remmen. Daarentegen werd bij onderzoek met proefdieren (voornamelijk ratten) aangetoond, dat ketanserin de pressor effecten van α_1 -agonisten kon verminderen.

Bij patiënten met hypertensie werden de bloeddrukstijgingen, volgend op infusies van de α_1 -agonist phenylephrine, door een intraveneuze gift ketanserin niet veranderd. Bij normotensieve vrijwilligers en bij hypertensieve patiënten die chronisch ketanserin gebruikten daarentegen, werd een geringe en niet competitieve remming van de effecten van α_1 -agonisten aangetoond.

Bij patiënten met autonome insufficiëntie veroorzaakte infusie van ketanserin een duidelijke bloeddrukdaling; dit in tegenstelling tot het effect van toediening van de α -adrenerge antagonist phentolamine. Deze gegevens tonen aan, dat het acute bloeddrukverlagende effect van ketanserin niet te verklaren is uit simpele α_1 -adrenerge blokkade en zelfs volledig onafhankelijk daarvan kan optreden. Het ligt voor de hand om de vaatverwijdende effecten van ketanserin derhalve volledig toe te schrijven aan blokkade van de perifere 5-HT₂ receptor.

Enkele waarnemingen echter suggereren toch een zekere mate van betrokkenheid van de α_1 -adrenerge receptor bij het bereiken van het bloeddrukverlagend effect van ketanserin. Na blokkade van de α_1 -adrenerge receptor met behulp van prazosine was het bloeddrukverlagende effect van ketanserin bij patiënten met hypertensie aanzienlijk verminderd. Diuretica behandeling daarentegen had geen invloed op de bloeddrukrespons. Vergelijkende experimenten bij spontaan hypertensieve ratten tussen de zeer specifieke 5-HT₂ receptor ritanserin en ketanserin, toonden aan dat de bloeddrukdaling onder ritanserin gering was, maar na toevoeging van prazosine vergelijkbaar met de daling op ketanserin (162). Na behandeling met ketanserin echter was het bloeddrukverlagend effect van prazosine verdwenen, terwijl de directe vaatverwijder adenosine alsnog een duidelijke bloeddrukdaling te weeg bracht (261). Bij 10 patiënten met essentiële hypertensie gaf ritanserin geen bloeddrukdaling in tegenstelling tot ketanserin (193).

Uit bovenstaande gegevens mag afgeleid worden dat er mogelijk een interactie bestaat tussen effecten gemedieerd door de α_1 -adrenerge receptor en gemedieerd door de 5-HT₂ receptor. Het zogenaamde amplificatie effect

van serotonine zou een voorbeeld hiervan kunnen zijn. *In vitro* kan het amplificatie effect van serotonine geremd worden door 5-HT₂ receptor antagonisten, zoals ketanserin en ritanserin. De bloeddrukverlagende werking van ketanserin berust mogelijk op onderbreking van de interactie tussen de door α_1 -adrenoceptor en 5-HT₂ receptoren gemedieerde effecten op de vaatwandmusculatuur.

8.3.2. Centrale mechanismen

Hoewel serotonerge vezels en neuronen in de medulla oblongata betrokken zijn bij de regulatie van bloeddruk zijn aanwijzingen over centrale effecten van ketanserin bij de mens niet direct voorhanden. Ketanserin penetreert niet of nauwelijks in de liquor cerebrospinalis en bij honden of ratten intracerebroventriculair toegediend werden geen belangrijke effecten op de bloeddruk gezien. Na infusie van ketanserin in het stroomgebied van de pons werd bij sommige proefdieren echter een duidelijke bloeddrukdaling waargenomen (78). Van oudere serotonine antagonist, maar ook van ketanserin zijn remmende invloeden op centraal gemedieerde bloeddrukstijgingen (beiderzijdse carotis occlusie) beschreven. Deze dierexperimentele gegevens, de bijwerkingen van ketanserin, het ontbreken van reflextachycardie en de anxiolytische werking van de zeer specifieke 5-HT₂-antagonist ritanserin zijn niet meer dan indirecte bewijsvoering voor mogelijke centrale effecten van ketanserin.

Bij centraal werkende antihypertensiva zoals clonidine en α -methyldopa gaat de bloeddrukdaling gepaard met een daling van hartfrequentie, catecholamines en renine. Na acute toediening van ketanserin werd een baroreflex gemedieerde stijging in noradrenaline en renine concentratie waargenomen. Deze stijging staat in redelijke verhouding tot de gegeven bloeddrukdaling, in vergelijking met andere vaatverwijders. Na acht weken chronische ketanserin werd geen verlaging in de catecholaminespiegels of renine geconstateerd. Deze bevindingen pleiten dus sterk tegen centrale mechanismen. De divergerende effecten van ketanserin op de bloeddruk en hartfrequentievariabiliteit tijdens de dag en de nacht gemeten met behulp van de 24 uren registraties sluiten een centraal aangrijpingspunt niet geheel uit.

Hoewel bij het proefdier centrale serotonerge neuronen en banen betrokken lijken bij het ontstaan en zeker het onderhouden van de hypertensie, zijn tot nu toe te weinig gegevens voor handen om de parallel naar de mens door te trekken.

8.3.3. Renine en aldosteron

De effecten van serotonine op de renine en aldosteron secretie zijn in het algemeen stimulerend, hoewel de bijdrage hiervan aan de ontwikkeling van hypertensie gering geacht wordt. De invloed op renine loopt waarschijnlijk via centrale mechanismen. Een acute gift ketanserin beïnvloedde de normale reflectoire renine stijging niet. Des te opmerkelijker was het uitblijven van een stijging van het plasma aldosteron, ook na stimulatie van aldosteron secretie met behulp van zoutdepletie. De aldosteron stijging op ACTH werd door ketanserin te niet gedaan. Deze gegevens wijzen op een remmende invloed van ketanserin op de aldosteronsecretie.

Serotonine is in staat de aldosteronsecretie te doen toenemen via centrale of perifere mechanismen. De centrale mechanismen via o.a. ACTH worden door ketanserin niet beïnvloed. Op bijnier niveau daarentegen is ketanserin in staat de door serotonine en ACTH aangezette aldosteronsecretie te remmen. Hoewel bij patiënten met een primair hyperaldosteronisme ten gevolge van bijnieradenomen de aldosteronspiegels met 20 procent daalden onder invloed van ketanserin, konden deze gegevens *in vitro*, gebruik makend van dispersies van adenoocellen, niet bevestigd worden. Het verloop van de aldosteronspiegels, serumelectrolyten en extracellulair volume wijzen niet op een bijdrage door aldosteronverlaging aan het antihypertensieve effect van ketanserin.

De invloed van serotonine op de aldosteronsecretie verloopt via complexe mechanismen, en is waarschijnlijk van ondergeschikt belang vergeleken met stimulators als ACTH, kalium en angiotensine-II. Daar lage renine hypertensie en primair hyperaldosteronisme mogelijk één entiteit vormen is chronisch serotonerge stimulatie van aldosteronsecretie als pathogenese voor deze ziektebeelden niet uitgesloten.

8.4. Ketanserin, serotonine en hypertensie

De vraag of serotonine bijdraagt tot de pathogenese van hypertensie is niet volledig te beantwoorden, hoewel de studies met ketanserin hieraan zeker een bijdrage hebben geleverd.

Het acute bloeddrukverlagend effect van ketanserin bij patiënten met essentiële hypertensie en bij patiënten met respiratoire insufficiëntie wordt te weeg gebracht door arteriële en, in mindere mate, veneuze vaatverwijding. Omdat ketanserin de bloeddrukstijging volgend op phenylephrine infusie niet verandert en omdat ketanserin bij patiënten met autonome insufficiëntie de bloeddruk doet dalen, mag de gevolgtrekking gemaakt worden dat de vaatverwijding niet het gevolg is van α_1 -adrenerge blokkade maar van blok-

kade van de perifere vasculaire 5-HT₂ receptor.

Door middel van vasoconstrictie kan serotonine op velerlei wijzen bijdragen tot het instandhouden van de verhoogde vaatweerstand bij patiënten met essentiële hypertensie. De 5-HT₂ receptor blijkt betrokken te zijn bij een aantal belangrijke serotonerge mechanismen die zich afspelen bij de vaatwand. De verhoogde neiging tot trombocytenuitstrooming en de versnelde release van serotonine, zoals vastgesteld bij hypertensieve patiënten, verloopt via activatie van de 5-HT₂ receptoren en is te remmen met ketanserin. De versterkte vasoconstrictie na serotoninetoediening, of na serotonine in combinatie met andere vasoconstrictieve stoffen kan verminderd worden door ketanserin via bezetting van de 5-HT₂ receptor. Dat het zogenaamde amplificatiemechanisme van serotonine ook een rol speelt bij patiënten met essentiële hypertensie, blijkt uit de waarnemingen, dat de effecten van ketanserin grotendeels teniet gedaan worden na voorbehandeling met een α_1 -adrenerge receptor. Een interactie van effecten op de vaatwand gemedieerd door activatie van de α_1 -adrenerge receptor en de 5-HT₂ receptor zou een plausibele verklaring kunnen zijn voor het veranderde amplificatiemechanisme. De vaatverwijdende eigenschappen van ketanserin zouden verklaard kunnen worden door zowel 5-HT₂ receptor blokkade alleen, als het onderbreken van de interactie tussen de effecten van de 5-HT₂ receptor én de α_1 -adrenerge receptor.

De evidente bloeddrukdaling bij patiënten met autonome insufficiëntie, die immers geen α -adrenerge stimulatie van hun vaattonus bezitten, verschilt van de geringe bloeddrukdaling bij patiënten na behandeling met de α_1 -blokker prazosine. Hoewel speculatief, is het niet ondenkbaar dat de vaattonus bij patiënten met autonome insufficiëntie voor een groot deel in stand gehouden wordt door serotonine.

Over de rol van serotonine voor wat betreft centrale beïnvloeding van de bloeddruk heeft ketanserin weinig inzicht kunnen verschaffen. Zowel na intraveneuze als chronische toediening werden bijwerkingen waargenomen, die aan een centraal mechanisme van bloeddrukverlaging doen denken. De veranderingen in 24 uren bloeddrukvariabiliteit en niet in hartfrequentievariabiliteit na chronisch ketanserin zouden kunnen wijzen op een bijdrage van centrale serotonerge mechanismen aan hypertensie. Daarentegen blijkt de specifieke 5-HT₂ receptor antagonist ritanserin wél in het centrale zenuwstelsel door te dringen, maar geen effecten op bloeddruk en hartfrequentie uit te oefenen.

Serotonine is in staat om de aldosteronsecretie te stimuleren via activatie van de 5-HT₂ receptor gelokaliseerd in de bijnierschors. Na ketanserin infusie daalde het aldosteron en werd de door ACTH veroorzaakte stijging in aldosteron duidelijk verminderd. Na chronisch ketanserin blijkt het aldosteron verlagend effect verloren te gaan. Hoewel ketanserin een remmende wer-

king heeft op zona glomerulosa cellen, lijkt de bijdrage van serotonine tot hypertensie via het renine-angiotensine-aldosteronsysteem van ondergeschikt belang.

Hypertensie wordt gekarakteriseerd door een hoge vaatweerstand. Verhoogde serotonineconcentraties bij de vaatwand, afkomstig uit geactiveerde trombocyten, een versterkte reactie op serotonine en andere vasoressoren en een verminderde serotonerg gemedieerde relaxatie door "afunctioneel endotheel", kunnen de rol van serotonine in de pathogenese van hypertensie verklaren. Onderzoek met de serotonine antagonist ketanserine heeft veel bijgedragen tot de beantwoording van de vraag of serotonine inderdaad betrokken is bij het ontstaan of onderhouden van hypertensie. Aanvullend onderzoek met meer specifieke en selectieve serotonine agonisten en antagonisten, zullen inzicht moeten verschaffen in de mechanismen waarmee serotonine bijdraagt tot het ontstaan van hypertensie, en in de plaats die serotonine antagonisten zullen innemen bij de hypertensiebehandeling.

Hoofdstuk 9

Summary and conclusions

9.1. Serotonin and hypertension

To protect the human organism against the toxic effects of free serotonin, the amine is cleared by means of uptake and storage by blood platelets and removal by endothelial cells of liver, lung and vessels. When the vascular endothelial layer is damaged, local platelet aggregation may occur and serotonin is released from the aggregating platelets.

If serotonin, once released from the platelets, causes peripheral effects, it does so at sites of high local concentration e.g. the vascular wall. After its release from the platelets serotonin induces further aggregation and release of other vasoactive substances such as collagen and ADP.

The intact endothelium interrupts this "vicious circle". Further more the intact endothelium is able to modulate and even to reverse vasoconstriction. Release of arachidonic acid, ADP, ATP, bradykinin and so-called endothelium-derived relaxant-factors may play a role. Vessels, denuded of their endothelial wall, show an augmented constrictory response to factors released from the platelets e.g. tromboxane- A_2 and serotonin. This response can be blocked by 5-HT₂ receptor antagonists, and can be potentiated by cold and anoxia. It is conceivable that the protective role of endothelium is reduced in diseases associated with destruction of endothelium. Endothelial da-

mage is known to occur in hypercholesterolaemia, diabetes, atherosclerosis and long-standing hypertension.

Serotonin is one of the vasoconstrictor substances, under suspicion for the pathogenesis of hypertension. Despite numerous investigations this role remains elusive, but some studies lend some support to the "serotonin-hypothesis". Hypertensive subjects show an augmented response to vasoconstrictors and this is particularly true for serotonin. Serotonin can amplify the vasoconstrictor effects of other vaso-active substances, and this amplifying effect is potentiated in hypertensive animals. Platelets of hypertensive patients can be characterised as "pre-activated", in terms of an accelerated serotonin turnover (212).

The consequence of increased serotonin release from activated platelets and reduced metabolism in the endothelium is that vessel walls of hypertensive patients are exposed to higher concentrations of free serotonin. The augmented vasoconstrictor response may then contribute to maintain an elevated vascular resistance, characteristic of hypertension.

Central serotonergic mechanisms may be involved in blood pressure regulation. Observations in animals suggest serotonergic control of sympathetic traffic. Moreover, serotonin has stimulating properties on the renin-angiotensin-aldosterone axis, which may contribute to the pathogenesis of hypertension.

Three major subclasses of 5-HT receptors have been identified using radioligand binding techniques. The 5-HT₁ receptor may be involved in vascular smooth muscle relaxation. The 5-HT₂ receptor mediates vasoconstriction, platelet aggregation and amplification of the actions of vasoconstrictor substances. Earlier studies using serotonin antagonists were not conclusive, because these components possessed partial agonistic activity on serotonin receptors, as well as affinity for adrenergic and dopaminergic receptors. Recently a new class of 5-HT₂ receptor antagonists came available, of which ketanserin (R41468, Janssen Pharmaceutica, Beerse) was the first representative. Ketanserin appeared to be highly selective on 5-HT₂ receptors, but it also binds to α_1 -adrenergic receptors.

It is free of agonistic activity. Using this drug in patients with hypertension we tried to clarify the role of serotonin in hypertension.

The aim of the study was

1. To investigate the antihypertensive effects of acute and long term ketanserin administration.
2. To explore the mechanism of this effect.

9.2. Antihypertensive effects of ketanserin

9.2.1. Acute effects

Ketanserin (10 mg i.v.) lowered mean arterial pressure by $16 \pm 2\%$ in 38 patients with essential hypertension. The hypotensive effect was instantaneous and lasted for at least 2 hours. The compound lowered arterial pressure by $11 \pm 3\%$ in 6 patients with acute respiratory failure and by $21 \pm 2\%$ in 4 patients with autonomic insufficiency, with an efferent sympathetic lesion.

The fall in arterial pressure was associated with increments in heart rate and cardiac output, probably baroreflex-mediated. For a given effect on arterial pressure, the increase in heart rate after ketanserin was relatively small. This cannot be explained by a diminished baroreflex function, because baroreflex sensitivity, as measured by the heart rate response to phenylephrine infusion, did not change after ketanserin. The profile of ketanserin's hemodynamic effects is compatible with combined arteriolar and venous dilatation. Total peripheral resistance, cardiac filling pressures and venous tone of the forearm were reduced. The combined effects of arteriolar dilatation and a slight decrease in cardiac output, as a result of decrease in filling pressures, explains the antihypertensive effect of ketanserin.

The fall in total peripheral resistance was partly achieved by renal vasodilatation and forearm vasodilation. Despite the fall in blood pressure, glomerular filtration rate did not change. The forearmflow which included the hand-flow, increased out of proportion, as a result of preferentially increase of hand skin flow. A fall in total peripheral resistance was also observed in patients with acute respiratory failure, associated with septic shock.

The decrease in pulmonary vascular resistance was not accompanied by an increase of the oxygen shunt fraction.

9.2.2. Chronic effects

Ketanserin, in a fixed dose of 40 mg b.i.d., was given to 24 patients with mild to moderate essential hypertension, in a placebo-controlled double-blind crossover study. Blood pressure was monitored with the London School of Hygiene sphygmomanometer, an automatic device (12 measurements in 1 hour) and in 18 subjects with 24-hour ambulatory intra-arterial measurements. Ketanserin decreased systolic blood pressure by 4% and diastolic blood pressure by 6%. Heart rate did not change. No postural hypertension occurred.

Ketanserin decreased arterial pressure both at night and day. The 24-hour blood pressure variability increased significantly, while the long term heart

rate variability did not change. Based on the criterion of a decrease in diastolic blood pressure of more than 10% and/or a decrease to less than 95 mmHg, 64% of the patients responded to ketanserin. We could not demonstrate a correlation between response in blood pressure and age, or between response and initial blood pressure.

The side effects were mild. Though drowsiness, dizziness and fatigue were reported more frequently during ketanserin, the difference with placebo was not significant. No patients dropped out and the compliance was excellent.

Ketanserin caused an increase in body weight, probably due to salt- and water retention. There were no adverse effects on renal function, serumcholesterol, electrolytes and white blood cell and platelet counts.

9.3. Mechanisms of the antihypertensive effect of ketanserin

9.3.1. Peripheral mechanisms

Ketanserin shares affinity for the 5-HT₂ receptor and the α_1 -adrenergic receptor. *In vitro*, ketanserin inhibits the serotonin induced contractions of arteries and veins, by blockade of the 5-HT₂ receptor. On the other hand ketanserin proved to inhibit the pressor effects of α_1 -adrenergic agonists in rats.

In patients with essential hypertension, ketanserin i.v. lowered arterial pressure, but did not change pressor effects of bolus injections of the α_1 -agonist phenylphrine. In hypertensive and normotensive subjects chronic ketanserin has been reported to cause a small, and probably not competitive, inhibition of the pressor responses to infusion of α_1 agonists. Finally, ketanserin had a distinct hypotensive effect in patients with autonomic insufficiency, whereas the non-selective α -blocker phentolamine had no effect on blood pressure. These studies demonstrate that the acute antihypertensive effect of ketanserin cannot be explained by blockade of α_1 -adrenoceptors, and that ketanserin can lower blood pressure independently of α_1 -blockade.

Yet, some observations suggest a certain degree of involvement of the α_1 -adrenergic receptor in the antihypertensive action of ketanserin. Pretreatment with prazosin attenuated the antihypertensive effect of ketanserin, while pretreatment with furosemide did not affect the response to ketanserin. It has been reported that in spontaneously hypertensive rats and in hypertensive man the blood pressure is not altered by the highly specific 5-HT₂ receptor antagonist ritanserin. However, ritanserin augmented the hypotensive effect of prazosin treatment in rats (162, 261).

These studies suggest a possible interaction between the effects mediated by the α_1 adrenergic receptor with those mediated by the 5-HT₂ recep-

tor. The blood pressure lowering effect of ketanserin may be based on an interruption of the interaction of α_1 mediated and 5-HT₂ mediated effects on vascular smooth muscle.

9.3.2. Central mechanisms

Studies, concerning central effects of ketanserin in man, are scarce. In animals intracerebrovascular administration of ketanserin does not cause effects on blood pressure. In contrast infusion of ketanserin into the medulla of some animals is followed by a decrease in blood pressure. Other experiments in the cat suggests a centrally mediated inhibition of sympathetic traffic by ketanserin. In humans the side effects of ketanserin (and ritanserin) i.e. sedation and sleepiness suggest at least some penetration into the brain. The increase in long term (24 hours) blood pressure variability with ketanserin is compatible with interference of blood pressure regulation on central level.

A strong argument against a central action of ketanserin as the cause of its effect on blood pressure is the fact that heart rate and plasma noradrenaline are not reduced by this drug. This observation contrasts the well-known decreases in heart rate and plasma noradrenaline after treatment with centrally acting antihypertensive agents such as clonidine and alpramethylopa. Though central serotonergic regulation of blood pressure has been suggested, studies with ketanserin cannot confirm this hypothesis in human subjects.

9.3.3. Renin and aldosterone

Serotonin is a weak stimulator of renin release and a more powerful stimulator of aldosterone secretion. After ketanserin (10 mg i.v.) proportionate increments of heart rate and renin were observed. Remarkable therefore was the absence of an increase in plasma aldosterone, both before and after stimulation of aldosterone with salt depletion. The expected rise in aldosterone to ACTH-infusion was attenuated by ketanserin.

In studies with isolated adrenal glomerulosa cells ketanserin attenuated the serotonin and ACTH induced aldosterone secretion, but the concentrations used (10^{-5} M) were quite high. The aldosterone production by adrenal adenoma cells was not influenced by ketanserin.

During long term treatment with ketanserin levels of renin and aldosterone did not change, it is therefore unlikely that inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone axis contributes to the antihypertensive action of ketanserin.

9.4. Ketanserin, serotonin and hypertension

Ketanserin served as an useful tool for investigating the role of serotonin in cardiovascular diseases.

Ketanserin is a potent vasodilator of resistance vessels and probably also of capacitance vessels. There is considerable evidence that the vasodilating properties of ketanserin are mediated by blockade of the peripheral vascular 5-HT₂ receptor.

This 5-HT₂ receptor seems to be involved in a lot of mechanisms, related to serotonin and hypertension. The increased aggregability of platelets in patients with hypertension is mediated by the 5-HT₂ receptor and can be reduced by ketanserin. The exaggerated vasoconstrictor response of hypertensive subjects to serotonin, as well as the augmentation by serotonin of the response to other vasoconstrictor substances can be inhibited by 5-HT₂ blockade. The amplifying effect of serotonin on α_1 -adrenoceptor mediated vasoconstriction suggests an interaction between the effects mediated by α_1 -adrenoceptors and those mediated by 5-HT₂ receptors. The opposite, i.e., attenuation of the hypotensive effect of ketanserin after pretreatment with prazosin lends support to this hypothesis. The blood pressure lowering effect of ketanserin can perhaps be explained by interruption of this interaction of effects mediated by activation of α_1 adrenoceptors and 5-HT₂ receptors. The observations in patients who were more or less devoid of α -adrenergic tone, i.e patients with autonomic failure and patients treated with prazosin, showed a remarkable difference in blood pressure response to ketanserin. It is tempting to speculate, that in patients with autonomic insufficiency, the vascular tone is maintained by serotonin.

Our studies do not answer the question of involvement of serotonin in central blood pressure regulation. Some side effects suggest a central action. Other observations, especially the lack of a depressing effect on plasma noradrenaline argue against a central action. It is important to note that the highly selective 5-HT₂ receptor antagonist, ritanserin, has little or no effects on blood pressure and heart rate in hypertensive subjects, although it enters rapidly into the brain.

The renin angiotensin system is only slightly affected by acute administration of ketanserin, but on long term it has no effect. *In vitro* studies demonstrate that ketanserin can inhibit the stimulatory effect of serotonin on aldosteron secretion by adrenal zona glomerulosa cells but this effect was only observed at concentrations of the drug that were higher, than those reached *in vivo*.

Hypertension is characterised by an elevated vascular resistance. Increased concentrations of free serotonin, released from activated platelets at the vessel wall, an augmented pressor response to serotonin and other va-

sopressors and a reduced dilator respons "due" to endothelial malfunction, may explain a role for serotonin in the pathogenesis of hypertension. Further studies with more specific and more selective serotonin agonists or serotonin antagonists are needed to clarify the role of serotonin in hypertension.

Literatuur

- 1 Abboud FM. Vascular responses to norepinephrine, angiotensin, vasopressin and serotonin. *Fed Proc* 1968; 27: 1391-5.
- 2 Abrahams VC, Pickford M. The effect of 5-hydroxytryptamine on the excretion of water in conscious dogs. *Br J Pharmacol* 1956; 11: 35-43.
- 3 Adam-Vizi V, Vizi ES. Direct evidence of acetylcholine releasing effect of serotonin in the Auerbach plexus. *J Neural Transm* 1978; 42: 127-38.
- 4 Adler S. Serotonin and the kidney.
In: Essmann WB ed. *Serotonin in health and disease, Volume IV: Clinical correlates*. New York: Spectrum, 1978; 99-139.
- 5 Affolter H, Burkard WP, Pletscher A. Verapamil an antagonist at 5-hydroxytryptamine receptors of human blood platelets. *Eur J Pharmacol* 1985; 108: 157-62.
- 6 Aghajanian GK, Wang RY, Baraban J. Serotonergic and non-serotonergic neurons of the dorsal raphe: reciprocal changes in firing induced by peripheral nerve stimulation. *Brain Res* 1978; 153: 169-75.
- 7 Ahlman H, Bhargava HN, Dahlström A, Larsson I, Newsson B, Pettersson G. On the presence of serotonin in the gut lumen and possible release mechanism. *Acta Physiol Scand* 1981; 112: 263-9.

- 8 Ahlman H, Dahlström A. Storage and release of 5-hydroxytryptamine in enterochromaffin cells of the small intestine. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-Hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 1-21.
- 9 Ahlund L, Lundgren Y, Sjöberg B, Weiss L. Vascular reactivity to 5-hydroxytryptamine (5-HT) in hindquarter vascular beds, aortic strips and portal veins from spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Acta Physiol Scand* 1977; 101: 489-92.
- 10 Ahtee L, Pentikäinen L, Pentikäinen PJ, Paasonen MK. 5-Hydroxytryptamine in the blood platelets of cirrhotic and hypertensive patients. *Experientia* 1974; 30: 1328-9.
- 11 Allison RC, Murphy TL, Weisman IM, MacCaffree DR, Gray BA. Effect of methysergide on the acute lung mechanics response to endotoxin. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1981; 50: 185-90.
- 12 Amery A, Fagard R, Fiocchi R, Lijnen P, Staessen J, Vermylen J. Antihypertensive action and serotonin-induced platelet aggregation during long-term ketanserin treatment in hypertensive patients. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: 182-5.
- 13 Anderson GM, Young JG, Cohen DJ, Schlicht K, Patel N. Liquid chromatography of serotonin and tryptophan in whole blood and plasma. *Clin Chem* 1981; 27: 775-6.
- 14 Andrén L, Svensson A, Dahlöf B, Eggertsen R, Hansson L. Ketanserin in hypertension: early clinical evaluation and dose finding study of a new 5HT₂ receptor antagonist. *Acta Med Scand* 1983; 214: 125-30.
- 15 Anthony M, Hinterberger H, Lance J.W. Plasma serotonin in migraine and stress. *Arch Neurol* 1967; 16: 544-52.
- 16 Antonaccio MJ, Robson RD. Cardiovascular effects of 5-hydroxytryptophan in anaesthetized dogs. *J Pharm Pharmacol* 1973; 25: 495-6 (letter).
- 17 Antonaccio MJ, Kelly E, Halley J. Centrally mediated hypotension and bradycardia by methysergide in anaesthetized dogs. *Eur J Pharmacol* 1975; 33: 107-17.
- 18 Antonaccio MJ, Robson RD. Centrally mediated cardiovascular effects of 5-hydroxytryptophan in MAO-inhibited dogs: modification by autonomic antagonists. *Arch Int Pharmacodyn* 1975; 213: 200-10.
- 19 Antonaccio MJ, Coté D. Centrally mediated antihypertensive and bradycardic effects of methysergide in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1976; 36: 451-4.
- 20 Antonaccio MJ, Taylor DG. Reduction in blood pressure, sympathetic nerve discharge and centrally evoked pressor responses by methysergide in anaesthetized cats. *Eur J Pharmacol* 1977; 42: 331-8.

- 21 Apperley E, Humphrey PPA, Levy GP. Receptors for 5-hydroxytryptamine and noradrenaline in rabbit isolated ear and aorta. *Br J Pharmacol* 1976; 58: 211-21.
- 22 Apperley E, Feniuk W, Humphrey PPA, Levy GP. Evidence for two types of excitatory receptors for 5-hydroxytryptamine in dog isolated vasculature. *Br J Pharmacol* 1980; 68: 215-24.
- 23 Ariëns Kappers J. Localization of indoleamine and proteïnsynthesis in the mammalian pineal gland. *J Neural Transmission* 1978; suppl 13: 13-24.
- 24 Armanini D, Goland GJ, Adam WR, Funder JW. Cyproheptadine and mineralocorticoid effector mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56: 397-400.
- 25 Asboe-Hansen G. Hormone control of connective tissue. *Pharmacology* 1966; 25: 1136-9.
- 26 Awouters F. Involvement of 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions: historical notes. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 71-5.
- 27 Awouters F, Leysen JE, De Clerck F, Van Nueten JM. General pharmacological profile of ketanserin (R41468), a selective 5-HT₂ receptor antagonist. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-Hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 193-7.
- 28 Balasubramanian V, Mann S, Raftery EB, Millar-Craig MW, Attman D. Effects of labetalol on continuous ambulatory blood pressure. *Br J Clin Pharmacol* 1979; 8: S119-23.
- 29 Ball SG, Zabudowski JR, Robertson JIS. Mechanisms of antihypertensive actions of ketanserin in man. *Br Med J* 1983; 287: 1056.
- 30 Bard P. Anatomical organization of the central nervous system in relation to control of the heart and blood vessels. *Physiol Rev* 1960; 40 (suppl 4): 3-27.
- 31 Barlow BB, Khan I. Actions of some analogues of 5-hydroxytryptamine on the isolated rat uterus and the rat fundus strip preparations. *Br J Pharmacol* 1959; 14: 265-72.
- 32 Baudouin-Legros M, Le Quan-Bui KH, Guicheney P, Kamal LA, Meyer P. Platelet serotonin in essential hypertension and in mental depression. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S12-4.
- 33 Bennett JP, Snyder SH. Serotonin and lysergic acid diethylamide binding in rat brain membranes: relationship to postsynaptic serotonin receptors. *Mol Pharmacol* 1976; 12: 373-89.

- 34 Berridge MJ. The mode of action of 5-hydroxytryptamine. *J Exp Biol* 1972; 56: 311-21.
- 35 Bhargava KP, Raina N, Misra N, Shanker K, Vrat S. Uptake of serotonin by human platelets and its relevance to CNS involvement in hypertension. *Life Sci* 1979; 25: 195-200.
- 36 Biber B, Fara J, Lundgren O. A pharmacological study of intestinal vasodilator mechanisms in the cat. *Acta Physiol Scand* 1974; 90: 673-83.
- 37 Bing RF, Schulster D. Steroidogenesis in isolated rat adrenal glomerulosa cells: response to physiological concentrations of angiotensin II and effects of potassium, serotonin and [sar¹, ala⁸] - angiotensin II. *J Endocrinol* 1977; 74: 261-72.
- 38 Black JL, French RJ, Mylecharane EJ. Receptor mechanisms for 5-hydroxytryptamine in rabbit ear arteries. *Br J Pharmacol* 1981; 74: 619-26.
- 39 Blackshear JL, Orlandi C, Garnic JD, Hollenberg NK. Differential large and small vessel responses to serotonin in the dog hindlimb in vivo: role of the 5 HT₂ receptor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7: 42-9.
- 40 Bogdankski DF, Weissbach H, Udenfriend S. Pharmacological studies with the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan. *J Pharmac Exp Ther* 1958; 122: 182-94.
- 41 Bolt GR, Saxena PR. Characterization of the hypotensive mechanism of ketanserin in conscious renal hypertensive rabbits. *Br J Pharmacol* 1984; 82: 120p.
- 42 Bolt GR. Haemodynamic profile and hypotensive mechanism of ketanserin in conscious hypertensive rabbits. In: Bolt GR *Vasodilators and regional blood flow*. Thesis, Rotterdam; 1985.
- 43 Born GVR. The effect of 5-hydroxytryptamine on the potassium exchange of human platelets. *Physiol* 1966; 190: 273-80.
- 44 Born GVR, Kanchana Juengjaroen, Michal F. Relative activities on and uptake by human blood platelets of 5-hydroxytryptamine and several analogues. *Br J Pharmacol* 1972; 44: 117-39.
- 45 Born GVR. Platelets and blood vessels. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: S706-13.
- 46 Boscaro M, Menegus A, Meroh G, Mancro F. Effect of ketanserin, a new specific 5-HT₂ receptor antagonist on ACTH secretion: in vitro and in vivo studies (abstract). *Excerpta Med Intern Congr Series* 1984; 652: 264
- 47 Bosin TR. Serotonin metabolism. In: Essman WB ed. *Serotonin in health and disease*. Volume I: Availability, localization and disposition. New York: Spectrum, 1978; 181-301.

- 48 Bradley PB, Engel G, Feniuk W, Fozard JR, Humphrey PPA, Middlemis DN, Mylecharane EJ, Richardson B, Saxena PR. Proposals for the classification and nomenclature of 5-hydroxytryptamine receptors. *Neuropharmacology* 1986; 25: 563-75.
- 49 Brainard GC, Matthews SA, Steger RW, Reiter RJ, Asch RH. Day: night variations of melatonin, 5-hydroxyindole acetic acid serotonin, serotonin-N-acetyltransferase, tryptophan, norepinephrine and dopamine in the rabbit pineal gland. *Life Sci* 1984; 35: 1615-22.
- 50 Brazenor RM, Angus JA. Ergometrine contracts isolated canine coronary arteries by a serotonergic mechanism: no role for alpha adrenoreceptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218: 530-6.
- 51 Brazenor RM, Angus JA. Actions of serotonin antagonists on dog coronary artery. *Eur J Pharmacol* 1982; 81: 569-76.
- 52 Breuer J, Meschig R, Breuer HWM, Arnold G. Effects of serotonin on the cardiopulmonary circulatory system with and without 5-HT₂-receptor blockade by ketanserin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S64-6.
- 53 Bristow JD, Honour AJ, Pickering GW, Sleight P, Smyth HS. Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure. *Circ Res* 1969; 39: 48-54.
- 54 Brown JJ, Faser R, Lever AF, Robertson JJS. Aldosterone: physiological and pathophysiological variations in man. *Clin Endocrinol Metab* 1972; 1: 397-422.
- 55 Cameron HA, Ramsey LE. A double-blind placebo controlled study of ketanserin in hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 1984; 18: 275P.
- 56 Canfield SP, Spencer JE. The inhibitory effects of 5-hydroxytryptamine on gastric acid secretion by the rat isolated stomach. *Br J Pharmacol* 1983; 78: 123-9.
- 57 Carr SR, Fozard JR. Inhibition of 5-hydroxytryptamine-evoked autonomic transmitter release by apomorphine. *Eur J Pharmacol* 1982; 81: 469-77.
- 58 Carroll PR, Ebeling PW, Glover WE. The responses of the human temporal and rabbit ear artery to 5-hydroxytryptamine and some of its antagonists. *A J E B A K* 1974; 52: 813-23.
- 59 Catavras JD, Gillis N. Single-pass removal of [¹⁴C]-5-hydroxytryptamine and [³H]-norepinephrine by rabbit lung, in vivo: kinetics and sites of removal. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 224: 28-33.
- 60 Cavero I, Lefèvre-Borg F, Roach AG. Effects of mianserin, desipramine and maprotiline on blood pressure responses evoked by acetylcholine, histamine and 5-hydroxytryptamine in rats. *Br J Pharmacol* 1981; 74: 143-48.

- 61 Chalmers JP. Brain amines and models of experimental hypertension. *Circ Res* 1975; 36: 469-80.
- 62 Chalmers JP, Wing LMH. Central serotonin and cardiovascular control. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1975; Suppl 2: 195-200.
- 63 Chalmers JP, Minson JB, Choy V. Bulbospinal serotonin pressor pathways and hypotensive action of methyldopa in the rat. *Hypertension* 1984; 6 suppl II: II-16-21.
- 64 Chand N, Altura BM. Serotonin receptors subserve only contraction in canine and rat pulmonary arteries and veins. *Artery* 1980; 7: 232-45.
- 65 Cheng JB, Shibata S. Pressor response to 5-hydroxytryptamine, norepinephrine and KCl in the perfused hindquarter preparation from the spontaneously hypertensive rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214: 488-95.
- 66 Clement D, Vanhoutte P, Leusen J. Capacitance reactions of isolated veins to monoamines and acetylcholine. *Arch Int Physiol Biochim* 1969; 77: 73-87.
- 67 Closse A. [³H] mesulergine, a selective ligand for serotonin-2 receptors. *Life Sci* 1983; 32: 2485-95.
- 68 Coccheri S, Fiorentini P. Platelet adhesiveness and aggregation in hypertensive patients. *Acta Med Scand* 1971; 525: 273-5.
- 69 Cocks TM, Angus JA. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature* 1983; 305: 627-30.
- 70 Cohen ML, Fuller RW, Wiley KS. Evidence for 5-HT₂ receptors mediating contraction in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218: 421-5.
- 71 Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM. 5-Hydroxytryptamine can mediate endothelium dependent relaxation of coronary arteries. *Am J Physiol* 1983; 245: H1077-80.
- 72 Cohen RA, Shepherd JT, Vanhoutte PM. Inhibitory role of the endothelium in the response of isolated coronary arteries to platelets. *Science* 1983; 221: 273-4.
- 73 Cohen RA, Vanhoutte PM. Platelets, serotonin and endothelial cells. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 105-12.
- 74 Collis MG, Vanhoutte PM. Vascular reactivity of isolated perfused kidneys from male and female spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1977; 41: 759-67.
- 75 Collis MG, De Mey C, Vanhoutte PM. Renal vascular reactivity in the young spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1979; 2: 45-52.

- 76 Collis MG and Vanhoutte PM. Tachyphylaxis to 5-hydroxytryptamine in perfused kidneys from spontaneously hypertensive and normotensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1981; 3: 229-35.
- 77 Coote JH, MacLeod VH. The influence of bulbospinal monoaminergic pathways on sympathetic nerve activity. *J Physiol.* 1974; 241: 453-75.
- 78 Copeland IW, Bentley GA. A possible central action of prazosin and ketanserin to cause hypotension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7: 822-25.
- 79 Costa JL, Murphy DL, Stark H. Applicability of models for carrier-mediated serotonin transport to pools of serotonin in intact human platelets. *J Physiol* 1981; 316: 153-61.
- 80 Coughlin SR, Moskowitz MA, Antoniades HN, Levine L. Serotonin receptor-mediated stimulation of bovine smooth muscle cell prostacyclin synthesis and its modulation by platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7134-8.
- 81 Coughlin SR, Moskowitz MA, Levine L. Identification of a serotonin type 2 receptor linked to prostacyclin synthesis in vascular smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 692-5.
- 82 Coupar IM. The effect of isoprenaline on adrenoceptors in human saphenous vein. *Br J Pharmacol* 1970; 39: 465-75.
- 83 Crawford N. Plasma free serotonin (5-hydroxytryptamine). *Clin Chim Acta* 1963; 8: 39-45.
- 84 Curro FA, Greenberg S, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM. Interaction between alpha adrenergic and serotonergic activation of canine saphenous veins. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 207: 936-49.
- 85 D'Amore P, Shepro D. Captation of 5-hydroxytryptamine and effects on endothelial cell metabolism. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5 hydroxytryptamine in peripheral reactions: New York: Raven Press, 1982; 37-47.
- 86 Da Prada M, Pletscher A. Isolated 5-hydroxytryptamine organelles of rabbit blood platelets physiological properties and drug-induced changes. *Br J Pharmacol* 1968; 34: 591-7.
- 87 De Clerck F, Reneman RS. Effect of lidoflazine (R7904) on uptake and release of serotonin by human platelets in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1973; 278: 261-9.
- 88 De Clerck F, Jageneau A, Dom J. Haemorrhological effects of ketanserin, a selective 5-HT₂ receptor antagonist, in aged, spontaneously hypertensive dogs. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1982; 258: 100-15.

- 89 De Clerck F, David JL, Janssen PAJ. Serotonergic amplification mechanisms in blood platelets. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 83-94.
- 90 De Clerck F, Herman AG. 5-Hydroxytryptamine and platelet aggregation. *Fed Proc* 1983; 42: 228-32.
- 91 De Clerck F, van Nueten JM. Platelet-mediated vascular contractions. Inhibition by flunarizine, a calcium-entry blocker. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 765-71.
- 92 De Clerck F. A contribution to the role of 5-hydroxytryptamine in blood platelet function. Thesis, Beerse; 1984
- 93 De Cree J, Leempoels J, De Cock W, Geukens H, Verhaegen H. The antihypertensive effects of a pure and selective serotonin-receptor blocking agent (R 41468) in elderly patients. *Angiology* 1981; 32: 128-37.
- 94 De Cree J, Verhaegen H, Symoens J. Acute blood-pressure-lowering effect of ketanserin. *Lancet* 1981; 1: 1161-2.
- 95 De Gaetano G. Blood platelets as a pharmacological model of serotonergic synaptosomes. In: De Gaetano G, Garrattini S eds. Platelets: a multidisciplinary approach. New York: Raven Press, 1978; 373-84.
- 96 De Leeuw PW, Birkenhäger WH. Chronic effects of serotonin inhibition in hypertensive patients: hemodynamic and humoral findings. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7) S 137-9.
- 97 D'Inverno E. Clinical use of plethysmography in the diagnosis of deep venous thrombosis and arterial occlusive disease. *Angiology* 1980; 31: 437-47.
- 98 De Jong W, Nijkamp FP, Bohus B. Role of noradrenaline and serotonin in the central control of blood pressure in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Arch Int Pharmacodyn* 1975; 213: 272-284.
- 99 De La Lande IS, Cannell VA, Waterson JG. The interaction of serotonin and noradrenaline on the perfused artery. *Br J Pharmacol Chemother* 1966; 28: 255-72.
- 100 Demoulin JC, Bertholet M, Soumagne D, David JL, Kulbertus HE. 5-HT₂ receptor blockade in the treatment of heart failure. *Lancet* 1981; 1: 1186-8.
- 101 Derckx FHM, van Gool JMG, Wenting GJ, Verhoeven RP, Man in 't Veld AJ, Schalekamp MADH. Inactive renin in human plasma. *Lancet* 1976; 2: 496-9.
- 102 Di Peri T, Lughì Pasini F, Vittoria A, Marterlli G. Action of ketanserin (R 41468) on maximal water and osmotic diuresis in normal subjects. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds, 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 219-26.

- 103 Docherty JR, MacGrath JC. A comparison of pre- and post-junctional potencies of several alpha-adrenoreceptor agonists in the cardiovascular system and anococcygeus muscle of the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1980; 312: 107-16.
- 104 Douglas WW. Histamine and 5-hydroxytryptamine (serotonin) and their antagonists. In: Goodmann J, Gillmann JJ eds. *Textbook of Pharmacology*. New York: MacMillan, 1980; 608-46.
- 105 Doyle AE. Vascular reactivity in human hypertension. *N Z Med J* 1968; 67: 295-303.
- 106 Doyle AE. Response to placebo treatment in hypertension. *Hypertension* 1983; 5 (suppl III): III 3-4.
- 107 Dun NJ, Karczmar AG. Evidence for a presynaptic inhibitory action of 5-hydroxytryptamine in a mammalian sympathetic ganglion. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 217: 714-8.
- 108 Echizen H, Freed CR. Long term infusion of L-5-hydroxytryptophan increases brain serotonin turnover and decreases blood pressure in normotensive rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 220: 579-84.
- 109 Edvinsson L, Hardebo JE, MacKenzie ET, Stewart M. Dual action of serotonin on pial arterioles in situ and the effect of propranolol on the response. *Blood Vessels* 1975; 14: 366-71.
- 110 Edvinsson L, Hardebo JE, Owman C. Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine receptors in isolated intracranial and extracranial vessels of cat and man. *Circ Res* 1978; 42: 143-51.
- 111 Eklund S, Fahrenkrug J, Iodal M, Lundgren O, Schaffalitzky de Muckadell OB, Sjöquist A. Vasoactive intestinal polypeptide, 5-hydroxytryptamine and reflex hyperaemia in the small intestine of the cat. *J Physiol (London)* 1980; 302: 549-57.
- 112 Elliott HL, Maclean K, Sumner DJ, Reid JL. Pharmacodynamic studies on mianserin and its interaction with clonidine. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 21: 97-102.
- 113 Elliott HL, Sumner DJ, Maclean K, Reid JL. Effect of age on the responsiveness of vascular alpha-adrenoceptors in man. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; 4: 388-92.
- 114 Emerson TE, Meier PD, Daugherty RM. Dependence of skeletal muscle vascular response to serotonin upon the level of vascular resistance. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 142: 1185-8.
- 115 Epstein S, Hamilton S. Cyproheptadine inhibition of stimulated plasma renin activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45: 1235-7.

- 116 Erspamer V, Asero B. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature* 1952; 169: 800-1.
- 117 Erspamer V. Pharmacology of indole alkylamines. *Pharmacol Rev* 1954; 6: 425-87.
- 118 Essman WB. Serotonin distribution in tissues and fluids. In: Essman WE ed. *Serotonin in health and disease. Volume 1: Availability, localization and disposition.* New York: Spectrum, 1978; 15-181.
- 119 Fagard R, Cattaert A, Lijnen P, et al. Responses of the systemic circulation and of the renin-angiotensin-aldosterone system to ketanserin at rest and exercise in normal man. *Clin Sci* 1984; 66: 17-25.
- 120 Fagard R, Fiocchi R, Lijnen P. et al. Haemodynamic and humoral responses to chronic ketanserin treatment in essential hypertension. *Br Heart J* 1984; 51: 149-56.
- 121 Fagard R, Fiochi R, Lijnen P, Staessen J, Amery A. Hemodynamic response to chronic ketanserin treatment in essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S128-9.
- 122 Feldman JM, Davis JA. Radioenzymatic assay of platelet serotonin, dopamine and norepinephrine in subjects with normal and increased serotonin production. *Clin Chim Acta* 1981; 109: 275-83.
- 123 Feniuk W, Humphrey PPA, Watts AD. Presynaptic inhibitory action of 5-hydroxytryptamine in dog isolated saphenous vein. *Br J pharmac* 1979; 67: 247-54.
- 124 Feniuk W, Humphrey PPA, Watts AD. Preliminary characterisation of the presynaptic receptor for 5-hydroxytryptamine in dog isolated saphenous vein. *Br J Pharmacol* 1979; 67: 424P-5.
- 125 Feniuk W, Humphrey PPA, Watts AD. Further characterization of pre- en postjunctional receptors for 5-hydroxytryptamine in isolated vasculature. *Br J Pharmac* 1980; 69: 191P-2.
- 126 Finch L. The cardiovascular effects of intraventricular 5,6-dihydroxytryptamine in conscious hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1975; 2: 503-08.
- 127 Floras JS, Hassan MO, Jones JV, Sleight P. Ambulatory blood pressure and its variability during randomised double-blind administration of atenolol, metoprolol, pindolol and long acting propranolol in subjects with mild to moderate hypertension. *Drugs* 1983; 25 (suppl 2): 19-25.
- 128 Folkow B. Physiological aspects of primary hypertension. *Physiol Rev* 1982; 62: 348-504.

- 129 Forster C, Whalley ET, Mohan J, Dutton J. Vascular smooth muscle response to fibrinogen degradation products and 5-hydroxytryptamine: possible role in cerebral vasospasm in man. *Br J Clin Pharmacol* 1980; 10: 231-6.
- 130 Forster C, Whalley ET. Spiperone contracts the human basilar arterial strip in vitro: possible interaction with 5-hydroxytryptamine receptors? *Br J Pharmacol* 1980; suppl: 581P-2.
- 131 Fozard JR, Leach GDH. The hypotensive action of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in anaesthetized and pithed rats. *Eur J Pharmacol* 1968; 2: 239-49.
- 132 Fozard JR, Mwaluko GMP. Mechanism of the indirect sympathomimetic effect of 5-hydroxytryptamine on the isolated heart of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1976; 57: 115-25.
- 133 Fozard JR, Mobarok Ali ATM. Receptors for 5-hydroxytryptamine on the sympathetic nerves of the rabbit heart. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1978; 301: 223-5.
- 134 Fozard JR. Mechanism of the hypotensive effect of ketanserin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; 4: 829-838.
- 135 Fozard JR. Functional correlates of 5-HT₂ recognition sites. *Trends Pharmacol Science* 1983; 4: 288-9.
- 136 Fraser R, Guest S, Young J. A comparison of double-isotope derivative and radio immunological estimation of plasma aldosterone concentration in man. *Clin Sci Mol Med* 1973; 45: 411.
- 137 Fraser R, Brouwn JJ, Lever AF, Mason PA, Robertson JIS. Control of aldosterone secretion. *Clin Sci* 1979; 56: 389-99.
- 138 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
- 139 Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, Iothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: S336-43.
- 140 Gaddum JH, Giarmann NJ. Preliminary studies on the biosynthesis of 5-hydroxytryptamine. *Brit J Pharmacol* 1956; 11: 88-92.
- 141 Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptors. *Br J Pharmacol Chemother* 1957; 12: 323-8.
- 142 Garattini S, Samanin R. Drugs affecting serotonin: a survey. In: Essmann WB ed. *Serotonin in health and disease. Volume II: Physiological regulation and pharmacological action.* New York: Spectrum, 1978; 247-95.

- 143 Gasic S, Eichler HG, Korn A. Effect of ketanserin on phenylephrine-dependent changes in splanchnic hemodynamics and systemic blood pressure in healthy subjects. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7: 219-23.
- 144 Gaudin-Chazal G, Portalier P, Puizillout JJ, Vigier D. Simultaneous visualization of aortic and [³H]-5 hydroxytryptamine- accumulating cell bodies in the nodose ganglion of the cat. *J Physiol* 1983; 337: 321-30.
- 145 Geaney DP, Schächter M, Elliott JM, Grahame-Smith DG. Characterization of [³H] lysergic acid diethylamide binding to a 5-hydroxytryptamine receptor on human platelet membranes. *Eur J Pharmacol* 1984; 97: 87-93.
- 146 Gershon MD, Dreyfus CF, Pickel VM, Joh TH, Reis DJ. Serotonergic neurons in the peripheral nervous system: identification in gut by immunohistochemical localization of tryptophan hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 3086-9.
- 147 Gershon MD, Tamir H. Peripheral sources of serotonin and serotonin-binding proteins. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 15-26.
- 148 Gillis CN, Gronau LH, Greene NM, Hammond GL. Removal of 5-hydroxytryptamine and norepinephrine from the pulmonary vascular space of man: influence of cardiopulmonary bypass and pulmonary arterial pressure on these processes. *Surgery* 1974; 76: 608-16.
- 149 Gillis CN, Roth JA. Pulmonary disposition of circulating vasoactive hormones. *Biochem Pharmacol* 1976; 25: 2547-53.
- 150 Gillis CN, Gronau LH, Mandel S, Hammond GL. Indicator dilution measurement of 5-hydroxytryptamine clearance by human lung. *J Appl Physiol* 1979; 46: 1178-83.
- 151 Gillis CN. Peripheral metabolism of serotonin. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 27-36.
- 152 Glennon RA, Titeler M, MacKenney JD. Evidence of 5-HT₂ involvement in the mechanism of action of hallucinogenic agents. *Life Sci* 1984; 35: 2505-11.
- 153 Goldstein DS, Horwitz D, Keiser HR. Comparison of techniques for measuring baroreflex sensitivity in man. *Circulation* 1982; 66: 432-9.
- 154 Goodwin GM, Green AR, Johnson P. 5-HT₂ receptor characteristics in frontal cortex and 5-HT₂ receptor-mediated head-twitch behaviour following antidepressant treatment to mice. *Br J Pharmacol* 1984; 83: 235-42.
- 155 Gordin A, Mustujoki P, Pelkonen R. Ketanserin without effects on basal anterior pituitary hormone secretion in healthy subjects. *J Endocrinol Invest* 1985; 8: 73.

- 156 Gordin A, Saraste K, Turanlahti M, Sundberg S. Comparison of ketanserin and pindolol in hypertension. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S61-2.
- 157 Gordon JL, Olvermann HJ. 5-Hydroxytryptamine and dopamine transport by rat and human blood platelet. *Br J Pharmacol* 1978; 62: 219-226.
- 158 Gordon JL, Olvermann HJ, Drymmond AH. Interaction of platelets with biogenic amines. In: De Gaetano G, Garattini S eds. *Platelets: a multidisciplinary approach*. New York: Raven Press, 1978; 361-72.
- 159 Gordon P, Haddy FJ, Lipton MA. Serotonin antagonism of noradrenaline in vivo. *Science* 1958; 128: 534-5.
- 160 Göthert M. Classification of serotonin receptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10 (suppl a): S3-S7.
- 161 Gould B, Davies AB, Mann S, Attman DG, Raftery EB. Does placebo lower blood pressure? *Lancet* 1981; 2: 1377-81.
- 162 Gradin K, Pettersson A, Hedner T, Persson B. Antihypertensive effects of ketanserin in the spontaneously hypertensive rat: mode of action. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl): S110-11.
- 163 Graham JR. Cardiac and pulmonary fibrosis during methysergide therapy for headache. *Am J Med Sc* 1967; 254: 1-12.
- 164 Griffith SG, Lincoln J, Burnstock G. Serotonin as a neurotransmitter in cerebral arteries. *Brain Research* 1982; 247: 388-92.
- 165 Gromova EA, Kraus M, Krecek J. Effect of melatonin and 5-hydroxytryptamine on aldosterone and corticosterone production by adrenal glands of normal and hypophysectomized rats. *J Endocrinol* 1967; 39: 345-50.
- 166 Gross MD, Grekin RJ, Gniadek TC, Villareal JZ. Suppression of aldosterone by cyproheptadine in idiopathic aldosteronism. *N Engl J Med* 1981; 305: 181-5.
- 167 Gruetter CA, Ignarro LJ, Hyman AL, Kadowitz PJ. Contractile effects of 5-hydroxytryptamine in isolated intrapulmonary arteries and veins. *Can J Physiol Pharmacol* 1981; 59: 157-62.
- 168 Guicheney P, Baudoin-Legros M, Garnie JP, Rogues P, Orieux C, Meyer P. Platelet serotonin and blood tryptophan in spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S15-7.
- 169 Gyermek L. 5-Hydroxytryptamine antagonists. *Pharmacol Rev* 1961; 13: 399-40.
- 170 Haddy FJ, Gordon P, Emanuel DA. The influence of tone upon responses of small and large vessels to serotonin. *Circ Res* 1959; 7: 123-30.

- 171 Haddy FJ. Serotonin and the vascular system. *Angiology* 1960; 11: 21-24.
- 172 Haning R, Tait SAS, Tait JF. In vitro effects of ACTH, angiotensins, serotonin and potassium on steroid output and conversion of corticosterone to aldosterone by isolated adrenal cells. *Endocrinology* 1970; 87: 1147-67.
- 173 Hardebo JE, Edvinsson L, Owman CH, Svendgaard NA. Potentiation and antagonism of serotonin effects on intracranial and extracranial vessels. *Neurology* 1978; 28: 64-70.
- 174 Hedner T, Persson B, Berglund G. Ketanserin, a novel 5-hydroxytryptamine antagonist: monotherapy in essential hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 16: 121-25.
- 175 Hedner T, Persson B, Berglund G. A comparative and long-term evaluation of ketanserin in the treatment of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S148-53.
- 176 Hedner Th, Pettersson A, Persson B. Blood pressure reduction and pharmacokinetics of ketanserin in hypertensive patients. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S91-93.
- 177 Heistad DD, Armstrong ML, Marcus ML, Piegors DJ, Mark AL. Augmented responses to vasoconstrictor stimuli in hypercholesterolemia and atherosclerotic monkeys. *Circ Res* 1984; 54: 711-18.
- 178 Helke CJ, Dias Souza J, Hamilton BL, Morgenroth VH, Gillis RA. Evidence for a role of central serotonergic neurones in digitalis-induced cardiac arrhythmias. *Nature* 1976; 263: 246-7.
- 179 Helke CJ, Quest JA, Gillis RA. Effects of serotonin antagonists on digitalis induced ventricular arrhythmias. *Eur J Pharmacol* 1978; 47: 443-9.
- 180 Hellige G, Ensink FBM, Baller D, Brennschütz-Schützenau H, Sigmund-Duchanova H, Zipfel J. Measurement of arterial and venous reactivity by an advanced strain gauge plethysmograph. *Angiology* 1979; 30: 539-48.
- 181 Helmeste DM, Tang SW. Temperature-sensitive high affinity 3 serotonin binding: characterization and effects of antidepressant treatment. *Life Sci* 1984; 35: 759-67.
- 182 Henry DP, Starman BJ, Johnson DG, Williams RN. A sensitive radioenzymatic assay for norepinephrine in tissues and plasma. *Life Sci* 1975; 16: 375-85.
- 183 Henry Ph D, Yokoyama M. Supersensitivity of atherosclerotic rabbit aorta to ergonovine. *J Clin Invest* 1980; 66: 306-13.
- 184 Heusler G, Finch L. Vascular reactivity to 5-hydroxytryptamine and hypertension in the rat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1972; 272: 101-16.

- 185 Hillarp NA, Fuxe K, Dahlström A. Demonstration and mapping of central neurons containing dopamine, noradrenaline, and 5-hydroxytryptamine and their reactions to psychopharmaca. *Pharmacol Rev* 1966; 18: 727-41.
- 186 Hills M, Armitage P. The two-period cross-over clinical trial. *Br J Clin Pharmacol* 1979; 8: 7-20.
- 187 Hoffman BJ, Karpa MD, Lever JR, Harlig PR. N₁-methyl-2- [¹²⁵I] LSD ([¹²⁵I] mil), a preferred ligand for serotonin 5-HT₂ receptors. *Eur J Pharmacol* 1985; 110: 147-8.
- 188 Hollander W, Michelson AL, Wilkins RW. Serotonin and antiserotonins. (I) Their circulatory, respiratory and renal effects in man. *Circulation* 1957; 16: 246-55.
- 189 Holmes MC, Di Renzo G, Beckford U, Gilham B, Jones MT. Role of serotonin in the control of secretion of corticotrophin releasing factor. *J Endocrinol* 1982; 93: 151-60.
- 190 Holmsen H, Ostvold AC, Day J. Behaviour of endogenous and newly absorbed serotonin in the platelet release reaction. *Biochem Pharmacol* 1973; 22: 2599-608.
- 191 Holmsen H. Platelet activation and serotonin. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 75-86.
- 192 Honda M, Novaczynski W, Guthrie GP et al. Response of several adrenal steroids to ACTH stimulation in essential hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 44: 264-72.
- 193 Hosie J, Stoot DJ, Robertson JIS, Ball SG. Does acute serotonergic type-2 antagonism reduce blood pressure? Comparative effects of single doses of ritanserin and ketanserin in essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10 (suppl 3): S86-S88.
- 194 Hoyer D, Markstein R, Doyle VM, Creba J, Engel G. Functional and biochemical correlates to serotonin (5-HT₁ and 5-HT₂) receptor binding. *Arch Pharmacol* 1986; 332 suppl: R81.
- 195 Humphrey PPA. The effects of α -adrenoceptor antagonists on contractile responses to 5-hydroxytryptamine in dog saphenous vein. *Br J Pharmacol* 1978; 63: 671-5.
- 196 Humphrey PPA, Feniuk W, Watts AD. Ketanserin, a novel antihypertensive drug? *J Pharm Pharmacol* 1982; 34: 541.
- 197 Humphrey PPA, Feniuk W, Watts AD. Pre-junctional effect of 5-hydroxytryptamine on noradrenergic nerves in the cardiovascular system. *Fed Proc* 1983; 42: 218-222.
- 198 Hurwitz R, Campbell RW, Gordon P, Haddy FJ. Interaction of serotonin with vasoconstrictor agents in the vascular bed of the denervated dog forelimb. *J Pharmacol Exp Ther* 1961; 133: 57-62.

- 199 Huval WV, Lelcuk S, Shepro D, Hechtman HB. Role for serotonin in patients with acute respiratory failure. *Ann Surg* 1984; 200: 166-72.
- 200 Ichida S, Hayashi T, Terao M. Selective inhibition by ketanserin and spiropeidol of 5HT-induced myometrial contraction. *Eur J Pharmacol* 1983; 96: 155-8.
- 201 Jageneau A, Loots W, Brugmans J, Hösig C, Hermans C, Van Loon J. Reactive hyperaemia after arterial occlusion and physical exercise. In: Jageneau AHM Ed. *Noninvasive methods on cardiovascular haemodynamics*. Elsevier: Amsterdam, 1981; 457-74.
- 202 Janssen PAJ. Pharmacology of potent and selective S₂-serotonergic antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S2-11.
- 203 Jarrott B, McQueen A, Graf L, Louis WJ. Serotonin levels in vascular tissue and the effects of a serotonin synthesis inhibitor on blood pressure in hypertensive rats. *CLin Exp Pharmacol Physiol* 1975; suppl 2: 201-5.
- 204 Jones MT, Birmingham M, Gilham B, Holmes M, Smith T. The effect of cyproheptadine on the release of corticotrophin releasing factor. *Clin Endocrinol* 1979; 10: 203-5.
- 205 Kalkman H, Timmermans PBMWM, van Zwieten PA. Characterization of the antihypertensive properties of ketanserin (R 41468) in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 222: 227-31.
- 206 Kalkman HO. *Vascular serotonin receptors*. Thesis, Amsterdam; 1983.
- 207 Kalkman HO, Boddeke HWGM, Doods HRN, Timmermans PBMWM, van Zwieten PA. Hypotensive activity of serotonin receptor antagonists in rats is related to their affinity for 5-HT₁ receptors. *Eur J Pharmacol* 1983; 91: 155-6.
- 208 Kalkman HO, Harms YM, van Gelderen EM, Batink HD, Timmermans PBMWM, van Zwieten PA. Hypotensive activity of serotonin antagonists; correlation with α_1 -adrenoceptor and serotonin receptor blockade. *Life Sci* 1983; 32: 1499-95.
- 209 Kalkman H, Engel G, Hoyer D. Three distinct subtypes of serotonergic receptor mediate the triphasic blood pressure response to 5-HT in rats. *Proc to 10th Scientific Meeting of ISH* 1984; 23 (abstract).
- 210 Kalsner S. Role of extraneuronal mechanisms in the termination of contractile responses to amines in vascular tissue. *Br J Pharmacol* 1975; 53: 267-77.
- 211 Kamal LA, Cloix JF, Devynck MA, Meyer P. [³H] Serotonin uptake in human blood platelets is reduced by ouabain and endogenous digitalis-like inhibitors of Na⁺ K⁺-ATP-ase. *Eur J Pharmacol* 1983; 92: 167-8.

- 212 Kamal LA, Quan-Bui KHL, Meyer Ph. Decreased uptake of 3H-serotonin and endogenous content of serotonin in blood platelets in hypertensive patients. *Hypertension* 1984; 6: 568-73.
- 213 Kaumann AJ. Two classes of myocardial 5-hydroxytryptamine receptors that are neither 5-HT₁ nor 5-HT₂. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S76-8.
- 214 Kellum JM, Jaffe BM. Validation and application of a radioimmunoassay for serotonin. *Gastroenterology* 1976; 70: 516-22.
- 215 Kem DC, Weinberger MH, Higgins JR et al. Plasma aldosterone response to ACTH in primary aldosteronism and in patients with low renin hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 46: 552-60.
- 216 Keyes SR, Rudnick G. Coupling of transmembrane proton gradients to platelet serotonin transport. *J Biol Chem* 1982; 257: 1172-6.
- 217 Kjeldsen SE, Gjesdal K, Eide I, Aakerson I, Amundsen R, Foss OP, Leren P. Increased B-tromboglobulin in essential hypertension: interactions between arterial plasma adrenaline, platelet function and blood lipids. *Acta Med Scand* 1983; 213: 369-73.
- 218 Konzett H. The effects of 5-hydroxytryptamine and its antagonists on tidal air. *Br J Pharmacol* 1956; 11: 289-94.
- 219 Korner PI, Head GA. Effect of noradrenergic and serotonergic neurons on blood pressure, heart rate and baroreceptor-heart rate reflex of the conscious rabbit. *J Auton Nerv Syst* 1981; 3: 511-23.
- 220 Krieger DT, Amorosa L, Linick F. Cyproheptadine induced remission of Cushing's disease. *N Engl J Med* 1975; 293: 893-6.
- 221 Krstic MK, Djurkovic D. Comparison of the cardiovascular responses to intracerebroventricular administration of tryptamine, 5-hydroxytryptamine, tryptophan and 5-hydroxytryptophan in rats. *Arch Int Physiol Biochim* 1981; 89: 385-91.
- 222 Krstic MK, Katvsic Z. Divergent effects of cyproheptadine and R 50656, a 5HT₂-antagonist, on the cardiovascular response to 5-hydroxytryptamine in rats. *Eur J Pharmacol* 1982; 85: 225-7.
- 223 Kuhn DM, Wolf WA, Lovenberg W. Review of the role of the central serotonergic neuronal system in blood pressure regulation. *Hypertension* 1980; 2: 243-55.

- 224 Kuhn DM, Wolf WA, Lovenberg W. Pressor effects of electrical stimulation of the dorsal and median raphe nuclei in anaesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214: 403-09.
- 225 Laduron PM, Janssen PFM, Leysen JE. In vivo binding of 3 ketanserin on serotonin S_2 -receptors in rat brain. *Eur J Pharmacol* 1982; 81: 43-8.
- 226 Lambert GA, Friedman E, Gershon S. Centrally-mediated cardiovascular responses to 5-HT. *Life Sci* 1976; 17: 915-20.
- 227 Lambert GA, Friedman E, Buchweitz E, Gershon S. Involvement of 5-hydroxytryptamine in the central control of respiration, blood pressure and heart rate in the anaesthetized rat. *Neuropharmacology* 1978; 17: 807-13.
- 228 Lance JW, Anthony M, Gonski A. Serotonin, the carotid body and cranial vessels in migraine. *Arch Neurol* 1967; 16: 553-8.
- 229 Laubscher A, Pletscher A. Shape change and uptake of 5-hydroxytryptamine in human blood platelets; action of neuropsychotropic drugs. *Life Sci* 1979; 24: 1833-40.
- 230 Lee PHK, Chan MY. Effects of adrenalectomy and adrenal steroids on the uptake of serotonin in rat platelets. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1984; 11: 53-9.
- 231 Lee PHK, Chan MY. Effect of steroids on the inhibition of platelet 5-HT uptake by desipramine and other antidepressants. *Eur J Pharmacol* 1985; 106: 255-62.
- 232 Le Messurier DH, Schwartz CJ, Whelan RF. Cardiovascular effects of intravenous infusions of 5-hydroxytryptamine in man. *Br J Pharmacol* 1959; 14: 246-50.
- 233 Leysen JE, Niemegeers CJE, Van Nueten JM, LaDuron PM. [3 H] Ketanserin (R41468), a selective 3 H-ligand for serotonin $_2$ receptor binding sites. *Mol Pharmacol* 1981; 21: 301-14.
- 234 Leysen JE, Geerts R, Gommeren W, Verwimp M, Van Gompel P. Regional distribution of serotonin-2 receptor binding sites in the brain and effects of neuronal lesions. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1982; 256: 301-5.
- 235 Leysen JE, Gommeren W, De Clerck F. [3 H]-ketanserin labels serotonin S_2 -receptor binding sites on cat blood platelets. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1983; 263: 322-4.
- 236 Leysen JE. Serotonergic binding sites. In: Van Houtte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 43-63.
- 237 Lin MT, Chern SI. Effect of brain 5-hydroxytryptamine alterations on reflex bradycardia in rats. *Am J Physiol* 1979; 236: R302-06.

- 238 Lindblad LE, Vanhoutte PM. Augmentation by cold of platelet-induced contraction of peripheral arteries of the dog. *Circulation* 1983; 68 (III): III 301.
- 239 Lindelauf F. Determination of ketanserin and its major metabolite (reduced ketanserin) in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1983; 277: 396-400.
- 240 Lingjaerde O. Platelet uptake and storage of serotonin. In: Essmann WB ed. *Serotonin in health and disease. Volume II: Clinical correlates*. New York: Spectrum, 1978; 139-200.
- 241 Ludwig C, Schmidt A. Das Verhalten der Gase, welche mit dem Blut durch den reizbaren Säugethiermuskel strömen. *Arbeiten Phys Anstatt zu Leipzig* 1868; 3: 1-61.
- 242 Maayani S, Wilkinson CW, Stollak JS. 5-Hydroxytryptamine receptor in rabbit aorta: characterization by butyrophenone analogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 229: 346-350.
- 243 Mac Cubbin JW, Kaneko Y, Page IH. Ability of serotonin and norepinephrine to mimic the central effects of reserpine on vasomotor activity. *Circ Res* 1960; 8: 849-58.
- 244 Mac Cubbin JW, Kaneko Y, Page IH. Inhibition of neurogenic vasoconstriction by serotonin. *Circ Res* 1962; 11: 74-83.
- 245 Mac Goon MD, Vanhoutte PM. Serotonin is the predominant mediator of platelet evoked contraction of canine pulmonary artery. *Circulation* 1983; 68, suppl III: 400.
- 246 Mac Grath MA. 5-Hydroxytryptamine and neurotransmitter release in canine blood vessels. *Circ Res* 1977; 41: 428-435.
- 247 Mac Grath MA, Shepherd JT. Histamine and 5-hydroxytryptamine-inhibition of transmitter release mediated by H₂ and 5-hydroxytryptamine receptors. *Fed Proc* 1978; 37: 195-8.
- 248 Mac Gregor BD, Smirk FH. Vascular responses to 5-hydroxytryptamine in genetic and renal hypertensive rats. *Am J Physiol* 1970; 219: 687-90.
- 249 Mac Keever WP, Croft JD, Coder DM. The effects of serotonin on segmental coronary vascular resistance. *J Lab Clin Med* 1959; 54: 923.
- 250 Mac Lennon DL, Taylor DA. Antagonism by ketanserin of 5-HT induced vasoconstriction unmasks a 5-HT induced vasodilation. *Eur J Pharmacol* 1984; 104: 313-18.

- 251 Maickel RP. Analytical procedures for serotonin and related compounds in biological samples. In: Essman WB ed. Serotonin in Health and Disease. Volume I: Availability localization and disposition. New York: Spectrum, 1978; 1-15.
- 252 Malcabali GL, Mandal AK, Morris JA. Endotoxemic Shock: an implied role for 5-hydroxytryptamine. In: De Clerck F, Vanhoutte PM. eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 153-62.
- 253 Mancia G. Methods for assessing blood pressure values in humans. Hypertension 1983; 5 (suppl III): III-5-III-13.
- 254 Man in 't Veld AJ, Wenting GJ, Boomsma F, Verhoeven RP, Schalekamp MADH. Sympathetic and parasympathetic components of reflex cardiostimulation during vasodilator treatment of hypertension. Br J Clin Pharmacol 1980; 9: 547-51.
- 255 Man in 't Veld AJ, Schalekamp MADH. Pindolol acts as a β -adrenoceptor agonist in orthostatic hypotension: therapeutic implications. Br. J Med 1981; 282: 929-31.
- 256 Man in 't Veld AJ, Boomsma F, Schalekamp MADH. Regulation of α - and β -adrenoceptor responsiveness. Studies in patients with chronic autonomic failure. Br J Clin Pharmacol 1983; 15: 507S-19S.
- 257 Mantero F, Opocher G, Boscano M, Armanini D. Effect of serotonin on plasma aldosterone in man. J Endocrinol Invest 1982; 5: 97-9.
- 258 Mantero F, Rocco S, Opocher G, Armanini D, Boscaro M, D'Agostino D. Effect of ketanserin in primary aldosteronism. J Cardiovasc Pharmacol 1985; 7 (suppl 7): S172-5.
- 259 Marin J, Sanchez CF. Influence of calcium on noradrenaline release evoked by 5-hydroxytryptamine, tyramine and potassium from goat pial arteries. J Pharm Pharmacol 1980; 32: 643-6.
- 260 Martinez AA, Lokhandwala MF. Evidence for a presynaptic inhibitory action of 5-hydroxytryptamine on sympathetic neurotransmission to the myocardium. Eur J Pharmacol 1980; 63: 303-11.
- 261 Marwood JF, Stokes GS. Studies on the mechanism of action of the hypotensive effect of ketanserin. Clin Exp Pharmacol Physiol 1984; 11: 125-32.
- 262 Matsuoka H, Ishii M, Goto A, Sugimolo T. Role of serotonin type 2 receptors in regulation of aldosterone production. Am J Physiol 1985; 249 (Endocrinol Metab 12): E 234-8.
- 263 Maxwell GM, Castillo CA, Clifford JE, Crumpton CW, Rowe GG. Effect of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the systemic and coronary vascular bed of the dog. Am J Physiol 1959; 197: 736-8.

- 264 Mehta J, Mehta P. Platelet function in hypertension and effect of therapy. *Am J Cardiol* 1981; 47: 331-4.
- 265 Mena MA, Vidrio H. Reversal of serotonin vasodilatation in the dog external carotid bed by sympathetic denervation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1979; 1: 149-54.
- 266 Meschig R, Breuer J, Arnold G. Serotonin-induced vasoconstriction in the perfused canine femoral artery can be blocked in vivo by ketanserin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (Suppl 7): S56-9.
- 267 Meuleman TR, Douglas CH, Port JD, Stanley TH, Pace NL, Mohammad SF. Ketanserin prevents platelet aggregation and endotoxin-induced pulmonary vasoconstriction. *Crit Care Med* 1983; 11: 606-11.
- 268 Millar JA, Facoory BD, Laverty R. Mechanism of action of ketanserin. *Lancet* 1982; 2: 1154.
- 269 Modlinger RS, Schonmuller JM, Arora SP. Stimulation of aldosterone, renin and cortisol by tryptophan. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 599-03.
- 270 Monroe PJ, Smith DJ. Characterization of multiple [³H] 5-hydroxytryptamine binding sites in rat spinal cord tissue. *J Neurochem* 1983; 41: 349-55.
- 271 Müller J, Huber R. Effects of sodium deficiency, potassium deficiency and uremia upon the steroidogenic response of rat adrenal tissue to serotonin, potassium ions and adrenocorticotropin. *Endocrinology* 1969; 85: 43-9.
- 272 Müller-Schweinitzer E. Evidence for stimulation of 5-HT receptors in canine saphenous arteries by ergotamine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1976; 295: 41-4.
- 273 Müller-Schweininter E. In: Weidmann H, Berde B, Schild HO eds. Ergot alkaloids and related compounds. *Handbook of experimental pharmacology*. Heidelberg: Springer Verlag, 1978; 87-139.
- 274 Murphy BF, Whitworth JA, Kincaid-Smith P. Ketanserin in the acute management of severe hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1985; 7 (suppl 7): S 168-71.
- 275 Murray Harper A, Mac Kenzie ET. Effects of 5-hydroxytryptamine on pial arteriolar calibre in anaesthetized cats. *J Physiol* 1977; 271: 735-46.
- 276 Myers MG, Reid JL, Lewis PJ. The effect of central serotonin depletion on DOCA-saline hypertension in the rat. *Cardiovasc Res* 1974; 8: 806-10.
- 277 Mylecharane EJ, Phillips CA, Markus JK, Shaw J. Evidence for a central component to the hypotensive action of ketanserin in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S114-6.

- 278 Navis G, de Jong PE, Van der Hem G, de Zeeuw D. Renal effects of ketanserin in essential hypertension. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S95-8.
- 279 Nelson MA, Coghlan JP, Denton DA, Mills EH et al. Serotonergic mechanisms and blood pressure in sheep. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S117-9.
- 280 Nolan PL. The effects of serotonin precursors on the pressor response to intravenous clonidine in conscious rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1977; 4: 579-83.
- 281 Okonkwo PO, Reimann IW, Woestenborghs R, Klotz U. High-performance liquid chromatographic assay with fluorometric detection of ketanserin, a new antihypertensive agent and serotonin S₂-antagonist in human plasma, blood and urine. *J Chromatogr* 1983; 272: 411-6.
- 282 Ontjes DA. The pharmacologic control of adrenal steroidogenesis. *Life Sci* 1980; 26: 2023-35.
- 283 Page IH, Mac Cubbin JW. The variable arterial pressure response to serotonin in laboratory animals and man. *Circ Res* 1953; 1: 354-62.
- 284 Page IH. Serotonin (5-hydroxytryptamine). *Physiol Rev* 1954; 34: 563-88.
- 285 Page IH. Serotonin (5-hydroxytryptamine); the last four years. *Physiol Rev* 1958; 38: 277-35.
- 286 Page IH. Serotonin. Chicago: Year Book Medic Publ, 1968: p 1-43.
- 287 Pazos A, Hoyer D, Palacios JM. Mesulergine, a selective serotonin-2 ligand in the rat cortex, does not label these receptors in porcine and human cortex: evidence for species differences in brain serotonin-2 receptors. *Eur J Pharmacol* 1985; 106: 531-8.
- 288 Pazos A, Hoyer D, Palacios JM. The binding of serotonergic ligands to the porcine choroid plexus: characterization of a new type of serotonin recognition site. *Eur J Pharmacol* 1985; 106: 539-46.
- 289 Pearse AGE, Polak JM, Bloom SR, Adams C, Dryburgh JR, Brown JC. Enterochromaffin cells of the mammalian small intestine as the source of motiline. *Virchows Arch Cell Path* 1974; 16: 111-20.
- 290 Pedigo NW, Yamamura HI, Nelson DL. Discrimination of multiple [³H] 5-hydroxytryptamine binding sites by the neuroleptic spiperon in rat brain. *J Neurochem* 1981; 36: 220-26.
- 291 Peeters M. Electronic and mechanical aspects of the periflow. In: Jageneau AHM, ed. *Non invasive methods on cardiovascular haemodynamics*. Amsterdam: Elsevier, 1981; 675-81.

- 292 Peroutka SJ, Snyder SH. Multiple serotonin receptors: differential binding of [³H] 5-hydroxytryptamine, [³H]-lysergic acid diethylamide and [³H]-spiroperidol. *Mol Pharmacol* 1979; 16: 687-99.
- 293 Peroutka SJ, Snyder SH. Long-term antidepressant treatment decreases spiroperidol-labeled serotonin receptor binding. *Science* 1980; 210: 88-90.
- 294 Peroutka SJ, Snyder SH. Multiple serotonin receptors and their physiological significance. *Fed Proc* 1983; 42: 213-17.
- 295 Peroutka SJ. Vascular serotonin receptors correlation with 5-HT₁ and 5-HT₂ binding sites. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 2349-53.
- 296 Persson B, Hedner T, Henning M. Cardiovascular effects in the rat of ketanserin, a novel 5-hydroxytryptamine receptor binding antagonist. *J Pharm Pharmacol* 1982; 38: 442-5.
- 297 Persson B, Hedner T, Berglund G. Ketanserin in essential hypertension: effect during rest and exercise. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 25: 307-12.
- 298 Persson B, Petterson A, Andersson O, Berglund G, Hedner Th. Regional haemodynamics and antihypertensive effects during long-term ketanserin treatment. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S99-101.
- 299 Peters JR, Grahame-Smith D. Human platelet 5HT receptors: characterisation and functional association. *Eur J Pharmacol* 1980; 68: 243-56.
- 300 Pickering TG, Gribbin B, Sleight P. Comparison of the reflex rate response to rising and falling arterial pressure in man. *Cardiovasc Res* 1972; 6: 277-83.
- 301 Pointel JP, Gin H, Drouin P, Verhes G, Debry G. Venous plethysmography: measuring techniques and normal values. *Angiology* 1981; 32: 145-154.
- 302 Polak JM, de Mey J, Bloom SR. 5-Hydroxytryptamine in mucosal endocrine cells of the gut and the lung. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-Hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 23-35.
- 303 Poplawski A, Skorulski M, Micwiarowski S. Increased platelet adhesiveness in hypertensive cardiovascular disease. *J Atheroscl Res* 1968; 8: 721-3.
- 304 Pott JW, Moreland RS, Bohr DF. Interaction of serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) in femoral arteries from hypertensive rabbits. *Fed Proc* 1984; 43: 557.
- 305 Poulson E, Robson JM, Sullivan FM. Teratogenic effect of 5-hydroxytryptamine in mice. *Science* 1963; 141: 717-8.

- 306 Presscott RWG, Kendall-Taylor P, Weightman DR, Watson MJ, Ratcliffe WA. The effect of ketanserin, a specific serotonin antagonist on the PRL, GH, ACTH and cortisol responses to hypoglycaemia in normal subjects. *Clin Endocrinol* 1984; 20: 137-42.
- 307 Pumphrey CW, Dawes J. Plasma beta-thromboglobulin as measure of platelet activity. *Am J Cardiol* 1982; 50: 1258-61.
- 308 Pupita F, Rotatori P, Frausini G. The study of venous distensibility as an index of varicose diathesis. In: Jageneau AMH ed. *Non invasive methods on cardiovascular haemodynamics*. Amsterdam: Elsevier, 1981; 139-153.
- 309 Quay WB, Meyer DC. Rhythmicity and period functions of the central nervous system and serotonin. In: Essmann WB ed. *Serotonin in health and disease*. Volume II: Physiological regulation and pharmacological action. New York: Spectrum, 1978; 159-205.
- 310 Quik M, Azmitia E. Selective destruction of the serotonergic fibers of the fornix-fimbria and cingulum bundle increases 5-HT₁ but not 5-HT₂ receptors in rat midbrain. *Eur J Pharmacol* 1983; 90: 377-84.
- 311 Racz K, Wolf I, Kiss R, Lada Gy, Vida S, Glaz E. Corticosteroidogenesis by isolated human adrenal cells: effect of serotonin and serotonin antagonists. *Experientia* 1979; 35: 1532.
- 312 Racz K, Varga I, Glaz E. et al. Met-enkephalin inhibits mineralocorticoid production in isolated human aldosteronoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 656-60.
- 313 Raftery EB. The effects of beta-blocker therapy on diurnal variation on blood pressure. *Eur Heart J* 1983; 4 (suppl D): 61-4.
- 314 Rapport MM, Green AA, Page IH. Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum. *J Biol Chem* 1948; 174: 735-41.
- 315 Rapport MM, Green AA, Page IH. Crystalline Serotonin. *Science* 1948; 108: 329-30.
- 316 Rapport M. Serum vasoconstrictor (serotonin). The presence of creatinine in the complex. A proposed structure of the vasoconstrictor principle. *J Biol Chem* 1949; 180: 961-69.
- 317 Rapport MM, Green AA, Page IH. Serum vasoconstrictor (serotonin). Chemical inactivation. *J Biol Chem* 1949; 180: 1237-41.
- 318 Rapport MM, Green AA, Page IH. Serum vasoconstrictor (serotonin). Isolation and characterization. *J Biol Chem* 1949; 180: 1243-51.
- 319 Rausch JL, Janowsky DS, Risch SC, Huey CY. Physostigmine effects on serotonin uptake in human blood platelets. *Eur J Pharmacol* 1985; 109: 91-6.

- 320 Reid G, Rand M. Pharmacological actions of synthetic 5-hydroxytryptamine (serotonin, thrombocytin). *Nature* 1952; 169: 801-2.
- 321 Reimann IW, Frölich JC. Mechanism of antihypertensive action of ketanserin in man. *Br Med J* 1983; 287: 381-3.
- 322 Reimann IW, Ratge D, Wisser H, Klotz U. Effects of intravenous ketanserin on plasma catecholamines and renin activity in normal volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1985; 28: 273-77.
- 323 Rion R, Mena MA, Hong E. On the mechanism of action of ketanserin, a selective antagonist of the S₂ receptors with antihypertensive activity. *Proc West Pharmacol Soc* 1983; 26: 373-5.
- 324 Rippe B, Folkow B. Simultaneous measurements of capillary filtration and diffusion capacities during graded infusions of noradrenaline (NA) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) into the rat hindquarter vascular bed. *Acta Physiol Scand* 1980; 109: 265-73.
- 325 Robertson JIS, Andrews TM. Free serotonin in human plasma. Quantitative and qualitative estimation. *Lancet* 1961; 1: 578-80.
- 326 Rocco S, Boscuo M, D'Agostino D, Armanini D, Opocher G, Mantero F. Effects of ketanserin on the in vitro regulation of aldosterone. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S51-4.
- 327 Rose GA, Holland WW, Crowley FA. A sphygmomanometer for epidemiologists. *Lancet* 1964; 1: 296-300.
- 328 Rosenkrantz H. A direct influence of 5-hydroxytryptamine on the adrenal cortex. *Endocrinology* 1959; 64: 355-62.
- 329 Rosenthal J, Koehle W, Gruebel B, Fisher R. Moderate essential hypertension control: a double-blind cross over study between a serotonin antagonist and a post-synaptic alpha blocker. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S85-7.
- 330 Rubin PC, Bluschke T. Studies on the clinical pharmacology of prazosin I: cardiovascular, catecholamine and endocrine changes following a single dose. *Br J Clin Pharmacol* 1980; 10: 23-32.
- 331 Rudnick G, Bencuya R, Nelson PJ, Zito RA. Inhibition of platelet serotonin transport by propranolol. *Mol Pharmacol* 1981; 20: 118-23.
- 332 Rudolph AM, Paul MH. Pulmonary and systemic vascular response to continuous infusion of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in the dog. *Am J Physiol* 1957; 189: 263-8.
- 333 Salmoiraghi G, Page IH, Mac Gubbin JW. Cardiovascular and respiratory response to intravenous serotonin in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1956; 118: 477-81.

- 334 Saman S, Thandroyen F, Opie LH. Serotonin and the heart: effects of ketanserin on myocardial function, heart rate, and arrhythmias. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S70-5.
- 335 Sasso EH, O'Connor DTO. Prazosin depression of baroreflex function in hypertensive man. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 22: 7-14.
- 336 Saxena PR. Selective vasoconstriction in carotid vascular bed by methysergide: possible relevance to its antimigraine effect. *Eur J Pharmacol* 1974; 27: 99-105.
- 337 Saxena PR, Verdouw PD. Effects of methysergide and 5-hydroxytryptamine (5-HT) on carotid blood-flow distribution in pigs; further evidence for the presence of atypical 5-HT receptors. *Br J Pharmacol* 1984; 82: 817-26.
- 338 Saxena PR, Richardson BP, Mylecharane EJ. et al. Functional receptors for 5-hydroxytryptamine (5-HT). *Trends Pharmacol Sci* 1986; 7:7.
- 339 Schächter M, Grahame-Smith DG. 5-Hydroxytryptamine and the platelet: specific binding and active uptake. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York: Raven Press, 1982; 49-59.
- 340 Schafer AI, Handin RI. The role of platelets in thrombotic and vascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1979; 22: 31-52.
- 341 Schalekamp MADH, Schalekamp-Kuyken MPA, Birkenhäger WH. Abnormal renal haemodynamics and renin suppression in hypertensive patients. *Clin Sci* 1970; 38: 101-10.
- 342 Scroop GC, Walsh JA. Interactions between angiotensin, noradrenaline and serotonin on the peripheral blood vessels in man. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1968; 46: 573-80.
- 343 Seabrook JM, Nolan PL. The vascular interaction of noradrenaline and 5-hydroxytryptamine. *Eur J Pharmacol* 1983; 89: 131-5.
- 344 Serafin R, Müller C, Heinen W. Ketanserin, erfahrungen bei akuter linksherzbelastung während gefäßchirurgischer eingriffe unter occlusion der aorta abdominalis. *Der Anesthesist* 1983; 32 (suppl) : 327-8.
- 345 Shuttleworth RD, O'Brien JR. Intraplatelet serotonin and plasma 5-hydroxy-indoles in health disease. *Blood* 1981; 57: 505-9.
- 346 Sibbald W, Peters S, Lindsay RM. Serotonin and pulmonary hypertension in human septic ARDS; *Crit Care Med* 1980; 8: 490-94.
- 347 Sills MA, Wolfe BB, Frazer A. Determination of selective and nonselective compounds for the 5-HT_{1a} and 5-HT_{1b} receptor subtypes in rat frontal cortex. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231: 480-7.

- 348 Slater P, Patel S. Autoradiographic distribution of serotonin₂ receptors in rat brain. *Eur J Pharmacol* 1983; 92: 297-8.
- 349 Smith ML, Browning RA, Myers JH. In vivo rate of serotonin synthesis in brain and spinal cord of young spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1979; 53: 301-5.
- 350 Smits JFM, Van Essen H, Struyker-Boudier HAJ. Serotonin-mediated cardiovascular responses to electrical stimulation of the raphe nuclei in the rat. *Life Sci* 1978; 23: 173-8.
- 351 Smyth HR, Sleight P, Pickering GW. Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man. A quantitative method of assessing baroreflex sensitivity. *Circ Res* 1969; 24: 109-20.
- 352 Smythe GA. The role of serotonin and dopamine in hypothalamic-pituitary function. *Clin Endocrinol* 1977; 7: 325-41.
- 353 Sneddon JM. Blood platelets as a model for monoamine containing neurones. *Prog Microbiol* 1973; 1: 151-98.
- 354 Somlyo AP, Somlyo AV. Vascular smooth muscle pharmacology of normal and hypertensive vessels. *Pharmacol Rev* 1970; 22: 273-6.
- 355 Sorkin EM, Clissold SP, Brogden RN. Nifedipine, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in ischaemic heart disease, hypertension and related cardiovascular disorders. *Drugs* 1985; 30: 182-274.
- 356 Stahl SM, Meltzer HY. A kinetic and pharmacologic analysis of 5-hydroxytryptamine transport by human platelets and platelet storage granules: comparisons with central serotonergic neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 205: 118-32.
- 357 Steele PP, Weily HS, Davies H, Genton E. Platelet function studies in coronary artery disease. *Circulation* 1973; 68: 1194-1200.
- 358 Steinberg H, Fisher A. Serotonin in the lung. In: Essmann WB ed. Serotonin in health and disease. Volume V: Clinical applications. New York: Spectrum, 1978; 69-111.
- 359 Stollak JS, Furchgott RF. Use of selective antagonists for determining the types of receptors mediating the actions of 5-hydroxytryptamine and tryptamine in the isolated rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 224: 215-21.
- 360 Stoltz JF. Uptake and storage of serotonin by platelets. In: Vanhoutte PM ed. Serotonin and the cardiovascular system. New York: Raven Press, 1985; 37-42.

- 361 Stoward PJ. The possible role of 5-hydroxytryptamine in Duchenne muscular dystrophy. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York, Raven Press, 1982; 141-52.
- 362 Strano A, Novo S, Raineri A, Ataimo G, Abrignani MG, Cutietta A. Effects of ketanserin on ambulatory blood pressure monitoring in patients with essential hypertension. *J Hypertension* 1986; 4 (suppl 1): S103-06.
- 363 Su C, Uruno T. Excitatory and inhibitory effects of 5-hydroxytryptamine in mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1985; 106: 283-90.
- 364 Sved AF, Van Itallie CM, Fernstrum JD. Studies on the antihypertensive action of L-tryptophan. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 221: 329-33.
- 365 Tait SAS, Tait JF, Bradley JES. The effect of serotonin and potassium on corticosterone and aldosterone production by isolated zona glomerulosa cells of the rat adrenal cortex. *A J E B A K* 1972; 50: 833-46.
- 366 Taylor JE, Defeudis FV. Inhibition of [³H]-spiperone binding to 5 HT₂ receptors of rat cerebral cortex by the calcium antagonists verapamil and D 600. *Eur J Pharmacol* 1985; 106: 215-6.
- 367 Thandroyen FT, Opie LH, Saman S. Serotonin and the heart. Pharmacological evaluation with the S₂ serotonin receptor antagonist, ketanserin. In: Vanhoutte PM, ed. Serotonin and the Cardiovascular system. New York: Raven Press, 1985; 87-94.
- 368 Theron JJ, Biagio R, Meyer AC, Boekkooi S, Seegers JC. The effect of a serotonin inhibitor on the serotonin content and ultrastructure of rat atria and ventricles with special reference to atrial granules. *Life Sci* 1978; 23: 111-20.
- 369 Thomas DP, Vane JR. 5-Hydroxytryptamine in the circulation of the dog. *Nature* 1967; 216: 335-8.
- 370 Toda N, Fujita Y. Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ Res* 1973; 33: 98-103.
- 371 Tranzer JP, Da Prada M, Pletscher A. Ultrastructural localization of 5-Hydroxytryptamine in blood platelets. *Nature* 1966; 212: 1574-5.
- 372 Trendelenburg U. The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. *J Pharmacol Exp Ther* 1956; 118: 450-60.
- 373 Trenk D, Mosler A, Kirch W, Meinertz T, Jünchen E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the 5HT₂ receptor antagonist ketanserin in man. *J Cardiovasc Pharmacol* 1983; 5: 1034-9.

- 374 Trevethick MA, Feniuk W, Humphrey PPA. 5-Hydroxytryptamine-induced relaxation of neonatal porcine vena cava in vitro. *Life Sci* 1984; 35: 477-86.
- 375 Tyce GM. Biochemistry of serotonin. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985: 1-13.
- 376 Vällfors B, Dahlström A, Boström S, Ahlman H. Influence of ketanserin on 5-hydroxytryptamine induced cerebrovascular spasm in the cat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S60-3.
- 377 Vane JR. A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol* 1957; 12: 344-9.
- 378 Vane JR. The relative activities of some tryptamine analogues on the isolated rat stomach strip preparation. *Br J Pharmacol* 1959; 14: 87-98.
- 379 Van der Kar LD, Wilkinson CW, Ganong WF. Pharmacological evidence for a role of brain serotonin in the maintenance of plasma renin activity in unanaesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 219: 85-90.
- 380 Van der Starre PJA, Bach Kolling J, Scheygrond H, Reneman RS. Hypertension following extracorporeal circulation. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. *5-hydroxytryptamine in peripheral reactions*. New York: Raven Press, 1982; 175-82.
- 381 Van der Starre PJA, Scheygrond HW, Reneman RS, Kolling BJ. The use of ketanserin, a 5-hydroxytryptamine receptor antagonist, for treatment of post operative hypertension following coronary artery bypass surgery. *Anesth Analg* 1983; 62: 63-9.
- 382 Vanhoutte PM. Pharmacology of the blood vessel wall. *J Cardiovasc Pharmacol* 1981; 3: 1359-69.
- 383 Vanhoutte PM, Verbeuren JJ, Webb RC. Local modulation of the adrenergic neuroeffector interaction in the blood vessel wall. *Physiol Rev* 1981; 61: 151-247.
- 384 Vanhoutte PM. Does 5-hydroxytryptamine play a role in hypertension? *Trends Pharmacol Sci* 1982; 3: 370-73.
- 385 Vanhoutte PM. 5-Hydroxytryptamine, vasospasm and hypertension. De Clerck F, Vanhoutte PM eds. *5-Hydroxytryptamine in peripheral reactions*. New York: Raven Press, 1982; 163-74.
- 386 Vanhoutte PM. Why 5-hydroxytryptamine? *Fed Proc* 1983; 42: 61-2.
- 387 Vanhoutte PM. 5-Hydroxytryptamine and vascular disease. *Fed Proc* 1983; 42: 233-37.

- 388 Vanhoutte PM, Cohen RA. The elusory role of serotonin in vascular function and disease. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 3671-74.
- 389 Vanhoutte PM, Van Nueten JM, Symoens J, Janssen PAJ. Antihypertensive properties of ketanserin (R41468). *Fed Proc* 1983; 42: 32-5.
- 390 Vanhoutte PM, Cohen RA, Van Nueten JM. Serotonin and arterial vessels. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: S421-8.
- 391 Van Nueten JM, Van Beek J, Vanhoutte PM. Inhibitory effect of lidoflazine on contractions of isolated canine coronary arteries caused by norepinephrine, 5-hydroxytryptamine, high potassium, anoxia and ergonovine maleate. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 213: 179-87.
- 392 Van Nueten JM, Vanhoutte PM. Effect of the Ca²⁺ antagonist lidoflazine on normoxic and anoxic contractions of canine coronary arterial smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1980; 64: 173-6.
- 393 Van Nueten JM, Janssen PAJ, Van Beek J, Xhonneux R, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM. Vascular effects of ketanserin (R41468), a novel antagonist of 5-HT₂ serotonergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218: 217-30.
- 394 Van Nueten JM, Vanhoutte PM. Selectivity of calcium antagonism and serotonin antagonism with respect to venous and arterial tissues. *Angiology* 1981; 32: 476-84.
- 395 Van Nueten JM. Serotonergic amplification mechanisms in vascular tissues. In: De Clerck F, Vanhoutte PM eds. 5-hydroxytryptamine in peripheral reactions. New York; Raven Press, 1982; 77-82.
- 396 Van Nueten JM, Janssen PAJ, De Ridder W, Van Houtte PM. Interaction between 5-hydroxytryptamine and other vasoconstrictor substances in the isolated femoral artery of the rabbit: effect of ketanserin (R41468). *Eur J Pharmacol* 1982; 77: 281-7.
- 397 Van Nueten JM, Leysen JE, Vanhoutte PM, Janssen PAJ. Serotonergic responses in vascular and non-vascular tissues. *Arch Int Pharmacodyn* 1982; 256: 331-4.
- 398 Van Nueten JM. 5-Hydroxytryptamine and precapillary vessels. *Federation Proc* 1983; 42: 223-7.
- 399 Van Nueten JM, Leysen JE, de Clerck F, Vanhoutte PM. Serotonergic receptor subtypes and vascular reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6: S564-74.
- 400 Van Nueten JM, Janssens WJ, Vanhoutte PM. Serotonin and vascular smooth muscle. In: Vanhoutte PM ed. Serotonin and the cardiovascular system. New York; Raven Press, 1985; 95-03.

- 401 Van Nueten JM, Janssen PAJ, Symoens J, Janssens WJ, Heykants J, De Clerck F, Leysen JE, Van Cauteren H, Vanhoutte PM. Ketanserin. In: Sriabine A ed. *New Cardiovascular Drugs*. New York: Raven Press, 1987; 36-7.
- 402 Van Reempts J, Borgers M, Xhonneux R, De Clerck F, Awouters F. The inhibition of ischemic lesions of the rat gastric mucosa by a novel serotonin antagonist: a light and electron microscopic study. *Angiology* 1981; 32: 529-42.
- 403 Verbeuren TJ, Jordaens FH, Herman AG. Accumulation and release of [³H]-5-hydroxytryptamine in saphenous veins and cerebral arteries of the dog. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 226: 579-88.
- 404 Verdouw PD, Jennewein HM, Heiligers J, Duncker DJ, Saxena PR. Redistribution of carotid artery blood flow by 5-HT: effects of the 5-HT₂ receptor antagonists ketanserin and WAL 1307. *Eur J Pharmacol* 1984; 102: 499-07.
- 405 Vincent JL, Degaute JP, Domb M, Simon P, Berre J, Vandesteene A. Ketanserin, a serotonin antagonist; administration in patients with acute respiratory failure. *Chest* 1984; 85: 510-14.
- 406 Vlachakis ND, Aledorf L. Hypertension and propranolol therapy: effects on blood pressure, plasma catecholamines and platelet aggregation. *Am J Cardiol* 1980; 45: 321-5.
- 407 Waal-Manning HJ, Brown SA, Spears GF, Simpson FO. Clinical studies with ketanserin in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S154-8.
- 408 Walker JM, Wilmhurst PT, Juul SM, Coltart DJ. Acute effects of ketanserin on left ventricular function, metabolism and coronary flow. *Br J Clin Pharmacol* 1984; 17: 301-7.
- 409 Wallis D. Neuronal 5-hydroxytryptamine receptors outside the central nervous system. *Life Sci* 1981; 29: 2345-55.
- 410 Watts AD, Feniuk W, Humphrey PPA. A pre-junctional action of 5-hydroxytryptamine and methysergide on noradrenergic nerves in dog isolated saphenous vein. *J Pharm Pharmacol* 1981; 33: 515-20.
- 411 Webb RC. Increased vascular sensitivity to serotonin and methysergide in hypertension in rats. *Clin Sci* 1982; 63: 73S-5.
- 412 Webb RC, Vanhoutte PM. Responsiveness of the hypertensive blood vessel wall to serotonergic stimuli. In: Vanhoutte PM ed. *Serotonin and the cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1985; 113-21.
- 413 Weiner RI, Ganong WF. Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiol Rev* 1978; 58: 905-76.

- 414 Wenting GJ, Man in 't Veld AJ, Woittiez AJJ, Boomsma F, Schalekamp MADH. Treatment of hypertension with ketanserin, a new selective 5-HT₂ receptor antagonist. *Br Med J* 1982; 284: 537-9.
- 415 Wenting GJ, Man in 't Veld AJ, Woittiez AJJ, Boomsma F, Schalekamp MADH. Hemodynamic effects of ketanserin, a selective 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor antagonist, in essential hypertension. *Clin Sci* 1982; 63: S435-8.
- 416 Wenting GJ, de Bruijn JHB, Man in 't Veld AJ, Woittiez AJJ, Derkx FHM, Schalekamp MADH. Hemodynamic effects of captopril in essential hypertension, renovascular hypertension and cardiac failure: correlations with short- and long-term effects on plasma renin. *Am J Cardiol* 1982; 49: 1453-9.
- 417 Wenting GJ, Woittiez AJJ, Man in 't Veld AJ, Schalekamp MADH. 5-HT, alpha-adrenoreceptors, and blood pressure. *Hypertension* 1984; 6: 100-09.
- 418 Wilkins RW. Serotonin, antiserotonins and hypertension. *N Engl J Med* 1956; 255: 115-8.
- 419 Wilkins RW, Hollander W. Serotonin and antiserotonins. II Clinical studies, especially in essential hypertension with the benzyl analog of serotonin (BAS). *Circulation* 1957; 16: 256-62.
- 420 Williams BC, Mac Dougall JG, Tait JF, Tait SAS. Calcium efflux and steroid output from superfused rat adrenal cells: effects of potassium, adrenocorticotrophic hormone, 5-hydroxytryptamine, adenosine 3': 5'-cyclic monophosphate and angiotensins II and III. *Clin Sci* 1981; 61: 541-51.
- 421 Williams BC, Snaikh S, Edwards ERW. The specificity of ketanserin in the inhibition of serotonin-induced steroidogenesis in the rat adrenal zona glomerulosa. *J Hypertension* 1984; 2 (suppl 3): 559-61.
- 422 Wilton PB, Mac Galden TA. The interaction between noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the isolated perfused rat hindlimb. *Eur J Pharmacol* 1977; 46: 213-19.
- 423 Wing LMH, Chalmers JP. Effects of p-chlorophenylalanine on blood pressure and heart rate in normal rabbits and rabbits with neurogenic hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1974; 1: 219-29.
- 424 Wing LMH, Chalmers JP. Participation of central serotonergic neurons in the control of the circulation of the unanaesthetized rabbit. *Circ Res* 1974; 35: 504-13.
- 425 Wolf WA, Kuhn DM, Lovenberg W. Pressor effects of dorsal raphe stimulation and intrahypothalamic application of serotonin in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Res* 1981; 208: 192-7.

- 426 Wolf WA, Kuhn DM, Lovenberg W. Serotonin and central regulation of arterial blood pressure. In: Vanhoutte PM ed. Serotonin and the cardiovascular system. New York: Raven Press, 1985; 63-73.
- 427 Wolf WA, Youdim MBH, Kuhn DM. Does brain 5-HIAA indicate serotonin release or monoamine oxidase activity? *Eur J Pharmacol* 1985; 109: 381-7.
- 428 Wouters W, Van Dun J, Leysen JE, Laduron PM. Photoaffinity labelling of serotonin- S_2 receptors with 7-azidoketanserin. *Eur J Pharmacol* 1985; 107: 399-400.
- 429 Wright CE, Angus JA. Hemodynamic response to ketanserin in rabbits with Page hypertension: comparison with prazosin. *J Hypertension* 1983; 1: 183-90.
- 430 Wright CE, Angus JA, Jackman GP. Hypotensive response to ketanserin in conscious rabbits: role of α -adrenoceptors. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1983; 10: 683-4.
- 431 Zabudowski JR, Zoccali C, Isles CG et al. Effect of the 5-Hydroxytryptamine type 2 receptor antagonist, ketanserin, on blood pressure, the renin-angiotensin system and sympatho-adrenal function in patients with essential hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 1984; 17: 309-16.
- 432 Zabudowski JR, Ball SG, Robertson JIS. Ketanserin and α -adrenergic antagonism in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 (suppl 7): S123-5.
- 433 Zimmermann H, Ganong WF. Pharmacological evidence, that stimulation of central serotonergic pathways increases renin secretion. *Neuroendocrinology* 1980; 30: 100-7.
- 434 Zoccali C, Zabudowski JR, Isles CG et al. The effect of a 5-HT antagonist, ketanserin, on blood pressure, the renin-angiotensin system and sympathoadrenal function in normal man. *Br J Clin Pharmacol* 1983; 16: 305-11.
- 435 Zucker MB, Borrelli J. Absorption of serotonin (5-hydroxytryptamine) by canine and human platelets. *Am J Physiol* 1956; 186: 105-10.

Een gedeelte van dit proefschrift is in de vorm van de volgende wetenschappelijke publicaties verschenen:

Wenting GJ, Man in 't Veld AJ, Woittiez AJJ, Boomsma F, Schalekamp MADH.
Treatment of hypertension with ketanserin, a new selective 5-HT₂ receptor antagonist.
Br Med J 1982; 284: 537-9.

Wenting GJ, Man in 't Veld AJ, Woittiez AJJ, Boomsma F, Schalekamp MADH.
Hemodynamic effects of ketanserin, a selective 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor antagonist in essential hypertension.
Clin Sci 1982; 63: S435-8.

Wenting GJ, Woittiez AJJ, Man in 't Veld AJ, Schalekamp MADH. 5-HT, alpha-adrenoceptors, and blood pressure. Effects of ketanserin in essential hypertension and autonomic failure. Hypertension 1984; 6: 100-9.

Woittiez AJJ, Wenting GJ, Man in 't Veld, AJ, Boomsma F, Schalekamp MADH.
Ketanserin: a possible tool for studying the role of serotonin in hypertension.
J Cardiovasc Pharmacol 1985; 7 (suppl 7): S130-6.

Schalekamp MADH, Woittiez AJJ, Wenting GJ, Van den Meiracker AH, Man in 't Veld AJ.
Ketanserin: hemodynamic effects and mechanism of action. J Hypertension 1986; 4 (suppl 1): S7-12.

Woittiez AJJ, Wenting GJ, Van den Meiracker AH, Ritsema van Eck HJ, Man in 't Veld AJ, Zantvoort F, Schalekamp MADH.
Chronic effect of ketanserin in mild to moderate essential hypertension.
Hypertension 1986; 8: 167-73.

Verantwoording

Dit proefschrift is bewerkt op de hypertensie afdeling van de afdeling Inwendige Geneeskunde I van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt. Het beschreven onderzoek is uiteraard niet het werk van een eenling, maar het produkt van een hechte samenwerking tussen vele personen.

Ongetwijfeld is de grote inspirator en coördinator van een dermate groot en complex team Maarten Schalekamp. Juist na mijn vertrek uit Rotterdam bleken de vele en lange "terugkom middagen" een goed rustpunt om met elkaar dermate intensief van gedachten te wisselen dat uiteindelijk dit proefschrift tot stand kwam.

Grote dank ben ik verschuldigd aan de vele collegae die mij geholpen hebben met de patiëntenstudies. Met name Gert Jan Wenting heeft mij ingewijd in de geheimen en problemen van de klinische research; echter zonder steun van Arie Man in 't Veld, Bart de Bruijn, Frans Derkx, Frans Boomsma, Lies Tan-Tijong, Frans Zantvoort, Jeroen Vincent, René Brouwer en later ook Ton van den Meiracker zou het verrichten van zulke studies een illusie zijn geweest.

De assistentes op de onderzoekcentrale, Gusta, Paulien en Woutrina, waren onmisbaar bij alle studies.

Door snelle en loyale medewerking van het laboratorium van met name René, Jeanette en Manorma kwamen de vele hormonale bepalingen tot stand.

Zeer grote dank ben ik verschuldigd aan mijn collegae internisten Jot, Jan, Bram, Jan en Leo die mij met eindeloos geduld en vol vertrouwen de vrije hand lieten.

Bijzonder erkentelijk ben ik Paul Derks en Jos Smakman, die zich buitengewoon hebben ingespannen voor het tot stand komen van dit proefschrift. Onnavolgbaar was de snelheid en het enthousiasme waarmee Marion Pelgrom de teksten verwerkte. Carla Swaab stond garant voor de fraaie illustraties, terwijl Roland Wijdeveld de lay-out voor het omslag bedacht.

De patiënten die zo loyaal en trouw de vele studies ondergingen ben ik zeer erkentelijk voor hun medewerking.

Mijn ouders dank ik voor de voortdurende impulsen tot het voltooien van deze opleiding en voor het bijbrengen van enig (zelf) kritisch vermogen.

De vraag tenslotte om niet in dit naschrift genoemd te worden tekent de steun en toewijding van Nelleke, en met haar onze kinderen Karen en Eric, ten voeten uit.

Curriculum vitae

A.J.J. Woittiez werd geboren op 10-02-1952 te Zuidland. In 1969 deed hij eindexamen HBS-B aan het Mgr. Frencken College te Oosterhout (Noord-Brabant). In dat jaar ook begon hij de studie geneeskunde aan de Rijks Universiteit Utrecht. In 1977 behaalde hij het arts-examen.

De militaire dienstplicht werd vervuld als bataljonsarts te Soesterberg. In 1978 werd de opleiding tot internist aangevangen op de afdeling Inwendige Geneeskunde van het St. Ignatius Ziekenhuis te Breda (opleider: Dr. A.C.J.M. Holdrinet).

Van 1980 tot 1984 werd de opleiding voortgezet op de afdeling Inwendige Geneeskunde I van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam/Dijkzigt (opleiders: Prof. Dr. J. Gerbrandy en Prof. Dr. M.A.D.H. Schalekamp).

Inschrijving in het Specialisten Register vond plaats in juli 1984. Nadien was hij werkzaam op de afdeling haemodialyse en niertransplantatie van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam.

Vanaf 1 juli 1985 is hij werkzaam als internist in het Streekziekenhuis Almelo met als speciale taak de medische coördinatie van de Intensive Care afdeling.