

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN LABORATORIUM DER SANDOZ A.G., BASEL

## UNTERSUCHUNGEN UEBER DIE PRESSORISCHE WIRKUNG DES 5-HYDROXYTRYPTAMIN (SEROTONIN)

*With Summary*

VON

H. WEIDMANN UND A. CERLETTI

*(Eingegangen am 17-8-1956).*

Die Blutdruckwirkung des Serotonins weist erhebliche tierartige Unterschiede auf. Während beim Hund eine mehrphasige Wirkung beobachtet werden kann — wobei die pressorische Phase am ausgeprägtesten und zuverlässigsten auftritt (9, 17) — führt die intravenöse Injektion von Serotonin bei der Katze zu einem abrupten reflektorischen Blutdruckabfall, ausgelöst durch eine Erregung von Rezeptoren in der Lunge und im Gebiet der Coronargefäße (3, 8). Die pressorische Wirkung des Serotonins beim Hund wird in erster Linie einer direkten peripheren Vasokonstriktion des Stoffes, evtl. verbunden mit einer stimulierenden Wirkung auf das Vasomotorenzentrum zugeschrieben (9, 7). Nach Vorbehandlung mit Atropin und Cocain (4), nach Ganglienblockade (9, 10, 11, 17) und nach Spinalisierung (11, 16) führt Serotonin auch bei der Katze stets zu einem reinen Blutdruckanstieg.

Die pressorische Blutdruckwirkung des Serotonins an der Spinalkatze wurde von uns zu einer erweiterten Untersuchung einiger Serotoninantagonisten herangezogen. Dabei zeigte sich, dass u.a. das in vitro bis zur Konzentration von  $10^{-9}$  wirksame Lysergsäurediäthylamid (LSD) in dieser Versuchsanordnung die Serotoninwirkung erst in Dosen von 50  $\gamma$ /kg und mehr deutlich hemmt. Der Antagonismus LSD-Serotonin ist demnach an der Spinalkatze, wie übrigens auch am Kreislaufsystem der intakten Katze (13) weit weniger deutlich als in vitro. Die im folgenden dargestellten Untersuchungen zeigen, dass die Wirksamkeit spezifischer Serotoninantagonisten auf das Kreislaufsystem der Katze durch einige Besonderheiten der Serotoninwirkung als solcher begrenzt wird.

## METHODE

Zu den Versuchen wurden 40 Katzen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 1,6-3,5 kg verwendet. Den Tieren wurde in tiefer Aethernarkose das Rückenmark zwischen C 1 und C 2 durchtrennt und zusätzlich das Gehirn zerstört. 10 Tiere wurden ausserdem zu Beginn oder im Verlauf des Versuches evisceriert, 8 Tieren wurden im Verlaufe des Versuches die Nebennieren ligiert. — Der Blutdruck wurde aus der rechten A. carotis mit einem Statham strain gage und die Pulsfrequenz in einzelnen Versuchen mit Hilfe eines elektronischen Frequenzzählers (2) registriert. Die Injektionen erfolgten sowohl intravenös in die V. jugularis, als auch intraaortal (i.a.) mit Hilfe eines durch die linke A. carotis in die Aorta thoracica vorgeschobenen Katheters.

## RESULTATE

a) *Die normale pressorische Serotoninwirkung bei der Spinalkatze.*

Serotonin (5-Hydroxytryptamin-creatininsulfat) führt an der Spinalkatze immer zu einem kurzdauernden Blutdruckanstieg (ABB. 1). Vor allem bei i.v. Injektion kann dem Anstieg eine kurze depressorische Phase vorausgehen, welche auf die von REID (12) beschriebene Konstriktion der Lungengefäße zurückzuführen ist. Im Durchschnitt erhöhten Dosen von 30-50  $\gamma$ /kg Serotonin i.v. in Versuchen an 29 Spinalkatzen

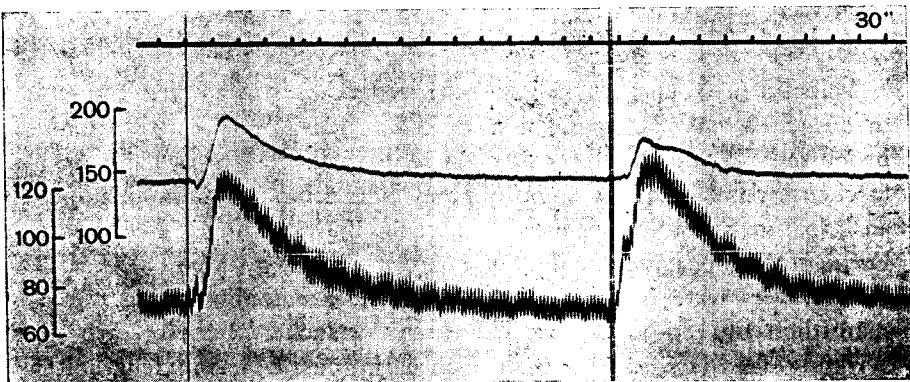


ABB. 1

Wirkung von 30  $\gamma$ /kg Serotonin auf Blutdruck und Pulsfrequenz bei i.v. (einfaches Signal) und bei i.a. Injektion (Doppelsignal). Spinalkatze 3,170 kg. Von oben nach unten: Zeit (30''), Pulsfrequenz (Schläge/Min.), Blutdruck (mm/Hg).

den mittleren Blutdruck von 54 auf 101 mm Hg, nach i.a. Injektion von 54 auf 100 mm Hg, also in beiden Fällen um rund 85 %. Bei 10 eviscerierten Spinalkatzen sind die entsprechenden durchschnittlichen Blutdrucksteigerungen praktisch gleich gross wie bei den nicht eviscerierten Tieren.

Die quantitativ gleiche pressorische Wirkung des Serotonins nach i.v. bzw. i.a. Injektion macht es wahrscheinlich, dass die direkte Herzwirkung der Substanz, welche sich bei der Spinalkatze in einer Beschleunigung der Herzfrequenz äussert, für das Ausmass der Blutdruckreaktion nicht von Bedeutung ist. Im Durchschnitt von je 5 Versuchen erfolgte bei i.v. Injektion von 30-50  $\gamma$ /kg Serotonin eine Beschleunigung der Herzfrequenz um 38 %, bei i.a. Injektion jedoch nur um 17 % (ABB. 1).

Bezüglich einer quantitativen Beurteilung ist die Frage der Zuverlässigkeit der Serotonin-Blutdruckreaktion bei über längere Zeit wiederholten Injektionen von wesentlicher Bedeutung. Eine Wirkungsabnahme, wie sie FREYBURGER et al. (4) im Sinne einer, wenn auch kurzdauernden Tachyphylaxie beschrieben haben, trat in unsern Versuchen an der intakten Spinalkatze nie auf. Hingegen riefen in etwa der Hälfte der Versuche aufeinanderfolgende Injektionen von Serotonin Blutdrucksteigerungen von zunehmender Intensität hervor, ehe sich die Reaktion auf eine bestimmte Grösse einstellte (ABB. 5). Ab und zu wurde auch ein Anstieg des Basisblutdruckes und das Auftreten von ausgeprägten rhythmischen Druckschwankungen beobachtet. Diese Sensibilisierung konnte sowohl bei kurzen (5-10 Min.), als auch bei längeren Injektionsintervallen beobachtet werden.

b) *Pressorische Serotoninwirkung nach Vorbehandlung mit Marsilid.*

Marsilid (1-Isonicotinyl-2-isopropyl-hydrazid, 25 mg/kg i.v.) hemmt in ausgeprägtem Masse die u.a. auch für den Abbau des Serotonins bedeutsame Monoaminoxidase. Dementsprechend war es nicht überraschend, dass die allein schon durch wiederholte Serotonininjektionen auslösbaren Sensibilisierungseffekte nach Vorbehandlung mit diesem Fermenthemmer noch viel deutlicher in Erscheinung traten. Wie Tab. I zeigt, verstärkte Marsilid die pressorische Serotoninwirkung durchschnittlich um 80-90 %. In einzelnen Versuchen äusserte sich die Wirkung des Marsilid zusätzlich noch darin, dass es nach wiederholten Serotonininjektionen zu spontaner langanhaltender Blutdruckerhöhung bis auf extreme Werte kam (ABB. 3). Bei der ersten Beurteilung waren wir geneigt, auch diese Erscheinung auf eine durch Marsilid bedingte Serotoninkumulation zurückzuführen. Die Versuche, diese Reaktion

mit dem Serotoninantagonisten LSD zu kupieren, schlugen jedoch fehl (ABB. 2), sodass nach anderen Gründen gesucht werden musste.

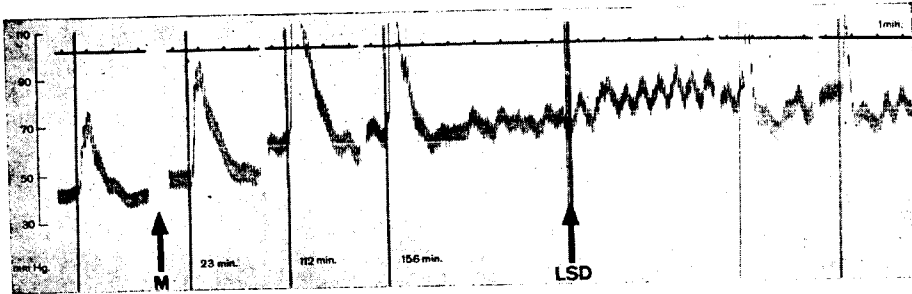


ABB. 2

Verstärkung der pressorischen Serotoninwirkung an der Spinalkatze (2,3 kg) durch Marsilid und Wirkung von LSD. Bei jedem Doppelsignal i.a., beim einfachen Signal i.v. Injektion von 50  $\gamma$ /kg Serotonin. Die Zeiten bedeuten den Abstand von der Marsilidverabreichung (M = 25 mg/kg i.v.), welche zwischen der ersten und zweiten der abgebildeten Serotonininjektionen erfolgte. LSD = i.v. Injektion von 50  $\gamma$ /kg Lysergsäurediäthylamid. Die nach Marsilid zunehmend erhöhte Ausgangslage des Blutdrucks wird durch LSD noch weiter gesteigert. Nachfolgende Serotonininjektionen erzeugen weiterhin nur wenig modifizierte pressorische Reaktionen.

### c) *Hemmung pressorischer Serotonineffekte durch Hydergin.*

Das ausgeprägt adrenolytisch, aber nur schwach serotoninhemmend wirksame Hydergin erwies sich überraschenderweise bedeutend aktiver als LSD bezüglich Hemmung der durch Marsilid gesteigerten Serotonineffekte. Wie Abb. 3 zeigt, senken 0,1 mg/kg Hydergin i.v. beim

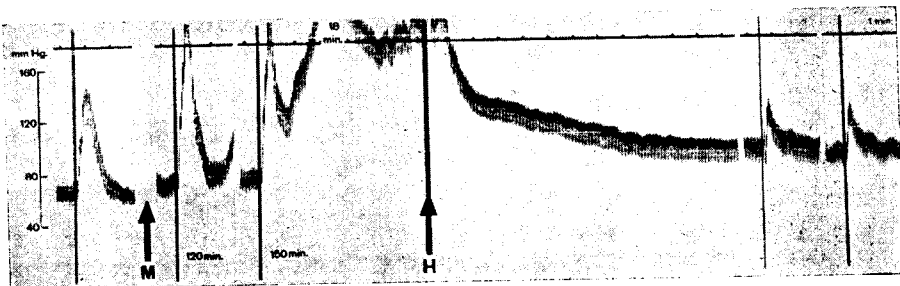


ABB. 3

Verstärkung der pressorischen Serotoninwirkung durch Marsilid und Hemmung durch Hydergin. Spinalkatze 2,500 kg. Bei jedem Doppelsignal i.a., beim einfachen Signal i.v. Injektion von 30  $\gamma$ /kg Serotonin. Die Zeiten bedeuten den Abstand von der Marsilidinjektion (M = 25 mg/kg i.v.). 150 Min. nach Marsilid kommt es im Anschluss an die Serotoninverabreichung zu einer spontanen anhaltenden Blutdruckerhöhung, welche jedoch durch 0,1 mg/kg Hydergin i.v. (H) vollständig aufgehoben wird. Die nachfolgenden Serotonininjektionen zeigen stark gehemmte Wirkung.

Marsilid vorbehandelten Tier nicht nur den nach Serotonin über längere Zeit gesteigerten Druck sehr rasch und stark, sondern reduzieren auch die unmittelbaren Druckreaktionen der nachfolgenden Serotoningaben um mehr als die Hälfte. Diese Befunde weisen darauf hin, dass an der durch Marsilid gesteigerten Serotonin-Blutdruckreaktion Adrenalin wesentlich beteiligt sein dürfte. Die weiteren Versuche liessen diese Annahme bestätigen.

d) *Beeinflussung der pressorischen Serotoninwirkung durch Nebennierenausschaltung.*

Wie bereits erwähnt, lösten wiederholte Serotoningaben in einzelnen Versuchen starke rhythmische Blutdruckschwankungen aus, welche als Ausdruck einer Sensibilisierung aufgefasst werden können. Diese Blutdruckschwankungen erfuhren durch Marsilid eine markante

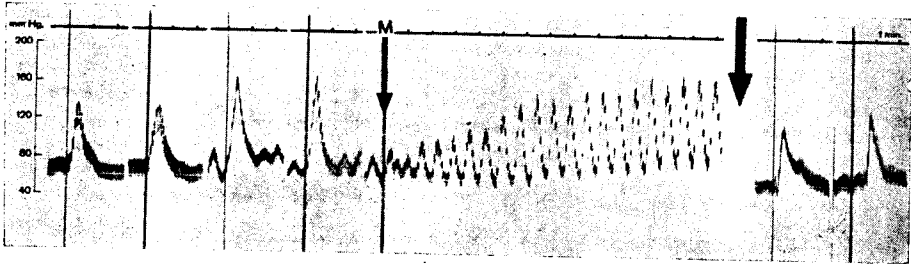


ABB. 4

Verstärkung der Serotoninsensibilisierung am Blutdruck durch Marsilid ( $M = 25 \text{ mg/kg i.v.}$ ) und Hemmung durch Nebennierenausschaltung. Spinalkatze 2,600 kg. Bei jedem einfachen Signal  $30 \text{ } \gamma/\text{kg}$  Serotonin i.v., bei jedem Doppelsignal  $30 \text{ } \gamma/\text{kg}$  Serotonin i.a. ↓ = Nebennierenligierung.

Steigerung. Durch Ausschaltung der Nebennieren mittels Ligatur gelang es aber, den Blutdruck schlagartig ruhig zu stellen (ABB. 4). Ein Vergleich der pressorischen Serotonineffekte vor und nach Nebennierenausschaltung zeigt ausserdem bedeutende Abschwächung derselben nach Adrenalektomie. Demnach ist sowohl die durch Serotonin selbst zustandekommende Sensibilisierung, als auch die Verstärkung der Serotoninwirkung durch Marsilid an die Unversehrtheit der Nebennieren gebunden. In der Tat erfuhr an der nebennierenligierten Spinalkatze Serotonin durch Marsilid bei weitem nicht mehr die Verstärkung wie an der intakten Spinalkatze, wie das aus der zweiten Hälfte der Tab. I hervorgeht. Einen weiteren Beweis für die Stimulierung des Nebennierenmarks durch Serotonin ergibt die Modifikation der Serotonin-Blutdruckreaktion durch Nebennierenausschaltung an der

TABELLE I

*Durchschnittliche Verstärkung der pressorischen Wirkung von 30-50  $\gamma$ /kg Serotonin an den intakten und nebennierenligierten Spinalkatzen durch 25 mg/kg Marsilid i.v.*

| Serotonin-Injektionsmodus        | Anzahl Versuche | Durchschnittl. Blutdruckreaktion (mm Hg) |               | Potenzierung durch Marsilid in % |
|----------------------------------|-----------------|------------------------------------------|---------------|----------------------------------|
|                                  |                 | vor Marsilid                             | nach Marsilid |                                  |
| Intakte Spinalkatzen             |                 |                                          |               |                                  |
| i.a.                             | 5               | 57 → 100                                 | 59 → 142      | 93                               |
| i.v.                             | 5               | 58 → 102                                 | 57 → 136      | 80                               |
| Nebennierenligierte Spinalkatzen |                 |                                          |               |                                  |
| i.a.                             | 2               | 44 → 89                                  | 45 → 97       | 16                               |
| i.v.                             | 2               | 45 → 80                                  | 47 → 93       | 31                               |

nicht mit Marsilid vorbehandelten Spinalkatzen. In Tab. II sind die an 4 Tieren ermittelten Werte wiedergegeben. Der Vergleich der Wirkung von 30-50  $\gamma$ /kg Serotonin vor und nach Adrenalectomie ergibt eine 30-40 %ige Hemmung als Folge der Nebennierenligatur. Abb. 5 zeigt ein charakteristisches Beispiel für diese Wirkung. Dieser Befund erfährt insofern eine Einschränkung, als der positive Ausfall des Versuches an gewisse Voraussetzungen geknüpft ist. Nur gut auf Sero-

TABELLE II

*Durchschnittliche Hemmung der pressorischen Wirkung von 30-50  $\gamma$ /kg Serotonin an der Spinalkatze durch Nebennierenausschaltung*

| Serotonin-Injektionsmodus | Anzahl Versuche | Durchschnittl. Blutdruckreaktion (mm Hg) |                         | Hemmung durch NN-Ligatur in % |
|---------------------------|-----------------|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
|                           |                 | vor Nebennierenligatur                   | nach Nebennierenligatur |                               |
| i.a.                      | 4               | 43 $\rightarrow$ 106                     | 47 $\rightarrow$ 86     | 38                            |
| i.v.                      | 4               | 45 $\rightarrow$ 105                     | 45 $\rightarrow$ 86     | 32                            |

tonin ansprechende Tiere — d.h. Tiere, welche auf wiederholte Serotonininjektionen mit einer Sensibilisierung antworten — zeigen eine Modifikation des Serotonineffektes durch Nebennierenausschaltung. Spinalkatzen, welche auf Serotonin nur mit einem geringen Blutdruckanstieg reagieren, zeigen auch nach Nikotin nur eine mässige pressorische Wirkung und Marsilid übt in solchen Fällen gar keine oder höchstens eine geringe verstärkende Wirkung auf Serotonin aus. Adrenalin andererseits zeigt eine normale Reaktion. Man muss annehmen, dass bei solchen Tieren die Nebennieren durch Serotonin nicht stimuliert werden und deshalb die Nebennierenausschaltung auch zu keiner Beeinflussung der Serotoninwirkung führen kann.

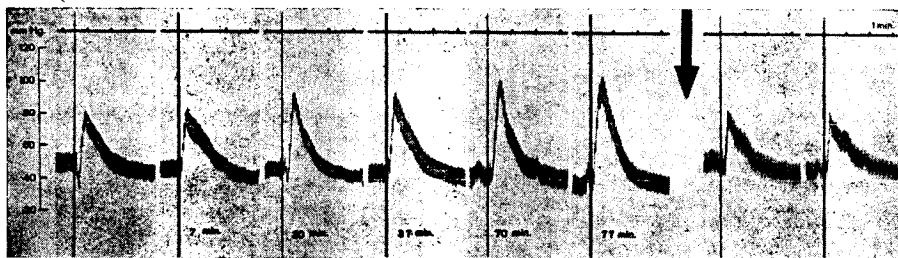


ABB. 5

Hemmung der pressorischen Serotoninwirkung durch Nebennierenausschaltung. Zugleich ein Beispiel für die spontane Serotoninsensibilisierung. Spinalkatze 3,020 kg. Die Zeiten bedeuten den Abstand von der ersten Serotonininjektion. Bei jedem einfachen Signal i.v., bei jedem Doppelsignal i.a. Injektion von 30  $\gamma$ /kg Serotonin.  $\downarrow$  = Nebennierenligierung.

Als weiteres Indiz für die Bedeutung der Nebenniere bei der pressorischen Serotoninwirkung zeigte sich in unseren Versuchen eine stärkere Hemmwirkung des LSD bei adrenaletomierten Tieren. Die maximal 50 %ige Serotoninhemmung durch LSD erreichte nach Ausschaltung der Nebennieren Werte bis 80 %.

#### e) *Beeinflussung der pressorischen Serotoninwirkung durch Ganglienblockade.*

Bei 4 Spinalkatzen wurde die ganglionäre Transmission durch Hexamethoniumbromid (10 mg/kg i.v.) vollständig blockiert (Unterdrückung der pressorischen Wirkung von 0,1 mg/kg Nicotin i.v.). Die Reaktion auf Serotonin war jedoch auch unter diesen Bedingungen nach i.v. Injektion unverändert, nach i.a. Injektion sogar um 30-40 % verstärkt. Hexamethonium blockiert also weder die direkte, noch die indirekte über die Nebennieren zustande kommende pressorische Serotonin-

wirkung. Eine Hemmung der Serotoninwirkung auf das Nebennierenmark konnte hingegen durch i.v. Verabreichung eines Lokalanästhetikum erzielt werden (2-4 mg/kg Panthesin).

# DISKUSSION

Die begrenzte Wirkung des LSD am Spinaltier steht deutlich im Gegensatz zu der Hemmung der Serotoninwirkung durch LSD, welche an der isoliert durchströmten Hintergliedmasse und Lunge des Hundes erreicht wird (5). An der Serotonin-Blutdruckreaktion bei der Spinalkatze sind also offenbar Faktoren mitbeteiligt, welche sich durch LSD nicht oder nur begrenzt hemmen lassen. Dass hierbei in erster Linie eine Stimulierung des Nebennierenmarks durch Serotonin in Frage kommt, ging schon aus der Beobachtung von REID (12) hervor, welcher durch nebennierennahe intraarterielle Injektion kleiner Serotonindosen (0,25-1,0) einen Blutdruckanstieg herbeiführen konnte. Ebenso beobachteten FREYBURGER et al. (4) an der cocainisierten und atropinisierten Katze nach 20-40  $\gamma$ /kg Serotonin i.v. einen sekundären Blutdruckanstieg, den sie in Analogie zu den Befunden REIDS auf eine Stimulierung der Nebennierenmarksekretion zurückführten. Neuerdings zeigte SCARINCI (14), dass bilaterale Adrenalektomie die pressorische Serotoninwirkung beim Hund abschwächt. Im Gegensatz zu diesem Befund stehen die Beobachtungen von PAGE und McCUBBIN (10) an Hund und Katze und SCHNEIDER et al. (15) am Hund, wonach bilaterale Adrenalektomie die Kreislauf- und Atmungsreaktion auf Serotonin während des akuten Experiments nicht ändert. Unsere eigenen Untersuchungen an der Spinalkatze zeigen jedoch eindeutig, dass die Nebennieren an der pressorischen Serotoninreaktion wesentlichen Anteil haben können.

Der Monoaminoxidasehemmer Marsilid verstärkt die pressorische Serotoninwirkung an der Spinalkatze mit intakten Nebennieren in weit stärkerem Ausmass als am adrenalektomierten Tier, da offenbar durch Marsilid weniger die direkte Serotoninwirkung als vielmehr der indirekte, nebennierenstimulierende Effekt gesteigert wird. Dementsprechend kommt es zur scheinbar paradoxen Situation, dass ein ausgesprochen adrenolytisch wirksames Präparat wie Hydergin die Marsilid-Potenzierung der Serotoninreaktion zu hemmen vermag, während ein spezifischer Serotoninantagonist wie LSD diesbezüglich praktisch wirkungslos ist. Die Auffassung, dass durch Marsilid hauptsächlich die indirekte, Sympathin freisetzende Wirkung des Serotonins verstärkt wird, teilen auch BALZER und HOLTZ (1).



Die fehlende Hemmbarkeit des Serotonineffekts auf das Nebennierenmark durch Hexamethonium steht in Einklang mit analogen Befunden von TRENDELENBURG (18) bezüglich der Stimulation des oberen Halsganglions, und von GINZEL und KOTTEGODA (6) bezüglich der Reizung des Carotissinus durch Serotonin.

Obwohl wir dargelegt haben, dass im Durchschnitt aller Versuche die intravenöse und die intraaortale Injektion von Serotonin — trotz stärkerer tachykarder Wirkung im ersteren Fall — pressorisch gleich stark wirksam waren, zeigte sich doch im einzelnen Versuch, dass gelegentlich die eine oder andere der beiden Verabreichungsarten sich als wirksamer erwies. Nach dem Gesagten lässt sich aber auch dieses Verhalten zwanglos erklären. Bei der i.v. Injektion wird der Anteil des Herzens, bei der i.a. Injektion jedoch der Anteil der Nebennieren an der Reaktion stärker in den Vordergrund treten. Je nach Ansprechbarkeit dieser beiden Organe fällt dann auch die pressorische Reaktion verschieden stark aus.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Analyse der Serotoninwirkung auf den Blutdruck der Spinalkatze ergibt, dass mehrere Faktoren am Zustandekommen der jeweiligen Reaktion beteiligt sind: direkte Wirkung auf die Gefäßmuskulatur, Förderung der Herzfrequenz und Stimulierung des Nebennierenmarks. Die durch Monoaminoxidasehemmung mittels Marsilid erzielbare Verstärkung der pressorischen Serotonineffekte betrifft zur Hauptsache diese letztere Wirkungskomponente. Hexamethonium vermag die Serotoninwirkung auf das Nebennierenmark nicht zu verhindern. Spezifische Serotoninantagonisten wie Lysergsäurediäthylamid hemmen den Anteil der Blutdruckreaktion, welcher durch Nebennierenreizung zustande kommt, ebenfalls nicht.

#### SUMMARY

The blood pressure rise produced by Serotonin in spinal cats is due not only to a direct constrictor effect on the vascular smooth muscle, but to an increase in the heart rate and to a stimulation of the adrenal medulla. Especially this last effect is enhanced after inhibiting the monoamine oxydase by iproniazid. The adrenal effect of serotonin is not blocked by hexamethonium nor by a specific antiserotonin compound like lysergic acid diethylamide.

LITERATUR

1. — BALZER, H. und HOLTZ, P. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, 1956, 227, 547.
2. — CERLETTI, A., HAERDI, F. und TAESCHLER, M. *Helv. Physiol. Acta*, 1951, 9, C5.
3. — COMROE, J. H. jr., VAN LINGEN, B., STROUD, R. C. and RONCORONI, A. *Amer. J. Physiol.*, 1953, 173, 379.
4. — FREYBURGER, W. A., GRAHAM, B. E., RAPPORT, M. M., SEAY, P. H., GOVIER, W. M., SWOAP, O. F. and VANDER BROOK, M. J. *J. Pharmacol.*, 1952, 105, 80.
5. — GINZEL, K. H., and KOTTEGODA, S. R. *Quart. J. Exper. Physiol.*, 1953, 38, 225.
6. — GINZEL, K. H. and KOTTEGODA, S. R. *J. Physiol.*, 1954, 123, 277.
7. — HEYMANS, C. et VAN DEN HEUVEL-HEYMAN, G. *Arch. int. pharmacodyn.*, 1953, 93, 95.
8. — KOTTEGODA, S. R. and MOTT, J. C. *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, 10, 66.
9. — PAGE, J. H. *J. Pharmacol.*, 1952, 105, 58.
10. — PAGE, J. H. and McCUBBIN, J. W. *Circulation Research*, 1953, 1, 354.
11. — PAGE, J. H. and McCUBBIN, J. W. *Amer. J. Physiol.*, 1953, 174, 436.
12. — REID, G. *J. Physiol.*, 1952, 118, 435.
13. — ROTHLIN, E., CARPI, A. e CERLETTI, A. *Atti XVI Congresso Soc. ital. Cardiol.*, 1954, 379.
14. — SCARINCI, V. *Il Farmaco*, 1955, 10, 783.
15. — SCHNEIDER, J. A., GAUNT, R. and EARL, A. E. *J. Pharmacol.*, 1954, 110, 45.
16. — SCHNEIDER, J. A. and YONKMAN, F. F. *Amer. J. Physiol.*, 1953, 174, 127.
17. — SCHNEIDER, J. A. and YONKMAN, F. F. *J. Pharmacol.* 1954, 111, 84.
18. — TRENDLENBURG, U. *Brit. J. Pharmacol.* 1956, 11, 74.