

SEROTONINE: CASUS INCOGNITUS VOOR HET PAARD?

¹C. Delesalle, ²RA. Lefebvre, ³JAJ. Schuurkes, ³P. Claes, ¹P. Deprez

¹Vakgroep Inwendige Ziekten en Klinische Biologie van de Grote Huisdieren,
Faculteit Diergeneeskunde, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

²Vakgroep Farmacologie-Heymans Instituut, Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen,
De Pintelaan 185, B-9000 Gent, België

³Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, een divisie van Janssen Pharmaceutica N.V.,
Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, België
Catherine.Delesalle@UGent.be

SAMENVATTING

Serotonine wordt in het maagdarmkanaal voornamelijk aangetroffen in enterochromaffine cellen en neuronen. Het bemiddelt zijn effect door de activering van specifieke serotonerge receptoren. De enterale serotonerge receptorpopulatie bij het paard is, voor zover onderzocht, niet analoog met deze van de mens. Toch worden humane serotonerge prokinetica aangewend bij de behandeling van paarden met koliek of ileus, vaak met erg wisselende resultaten. Meer onderzoek is nodig ter karakterisering van de specifieke enterale serotonerge receptoren bij het paard, die dienst kunnen doen als farmacologisch doelwit voor motiliteitsmodulerende farmaca.

INLEIDING

Ongeveer 50 jaar geleden werd de chemische structuur van serotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT) ontdekt (Rapport *et al.*, 1947). De stof werd geïdentificeerd als een potente vasoconstrictor aanwezig in het bloed, waaraan het zijn naam sero-tonin te danken heeft. 5-HT wordt als biologisch indolamine gesynthetiseerd uitgaande van het aminozuur tryptofaan. Het komt voor bij mensen, dieren en planten.

Van alle neurotransmitters kent 5-HT bij de ontwikkeling van farmaca de meeste toepassingen. Medicatie gericht op de modulatie van serotonerge mechanismen, wordt gebruikt bij de behandeling van depressie, angst, obsessieve compulsieve stoornissen, schizofrenie, hypertensie, pulmonaire hypertensie, eetstoornissen, bloedstollingsstoornissen, migraine, misselijkheid en gastro-intestinale problemen. Wanneer men bedenkt dat de gemiddelde mens slechts over ongeveer 10 mg 5-HT beschikt, zijn de effecten van deze neurotransmitter enorm.

Reeds meer dan twee decennia weet men dat er bij de mens een substantiële hoeveelheid 5-HT voorkomt in het maagdarmstelsel, dat dan ook wordt beschouwd als de grootste bron van 5-HT in het menselijk lichaam (Erspamer, 1966; Thompson, 1971).

5-HT wordt als neurohumorale boodschapper gesynthetiseerd en opgeslagen in verschillende cel-

types. Ongeveer 80% van de totale hoeveelheid 5-HT wordt aangetroffen ter hoogte van enterale enterochromaffine cellen (Erspamer, 1966), terwijl ongeveer 10% wordt aangetroffen in enterische neuronen, onder andere in de myenterische plexus (Costa *et al.*, 1982). Het resterende deel van het perifere 5-HT (ongeveer 2%) wordt aangetroffen in de bloedplaatjes die vrij circulerend 5-HT opnemen. Tot slot wordt ook 5-HT aangetroffen ter hoogte van het centrale zenuwstelsel (Barnes *et al.*, 1999; Spiller, 2002).

Wat betreft het spijsverteringsstelsel is 5-HT een belangrijke neurotransmitter (Gershon en Erde, 1981) die een rol speelt in secretieprocessen (Cussato *et al.*, 1982) en in regulatie van gastro-intestinale motiliteit en sensitiviteit (Gershon *et al.*, 1990). Verder speelt het een rol in de regulatie van de bloedvoorziening en van de vasculaire permeabiliteit (Jandu *et al.*, 2001). 5-HT wordt ook aangetroffen in enterale mastcellen, wat doet vermoeden dat het een rol speelt in de immuniteit (Kraneveld, 1994). Bulbring was de eerste onderzoeker die 5-HT in verband bracht met gastro-intestinale motoriek. Het heeft uiteindelijk meer dan 40 jaar onderzoek gevergd om een duidelijk beeld te vormen van de complexe eigenschappen van 5-HT (Bulbring en Crema, 1959). Dit laatste heeft zeker te maken met de talrijke 5-HT-receptor subtypes en de diversiteit in hun lokalisatie en intracellulaire signaaltransductie. Tot op heden werden

maar liefst 14 verschillende 5-HT-receptor subtypes geïdentificeerd, elk met hun specifieke affiniteit en "second messenger" systeem. Het hoeft dan ook geen betoog dat door de ontdekking en ontwikkeling van specifieke 5-HT-receptoragonisten en -antagonisten de kennis over 5-HT een enorme vlucht heeft genomen (Sarna *et al.*, 2000). Op dit ogenblik kan gesteld worden dat de farmaceutische industrie zich voor ontwikkeling van gastro-intestinale prokinetica in belangrijke mate richt op de modulatie van enterale serotonerge mechanismen. Ondanks deze evolutie is de kennis over 5-HT bij het paard zeer beperkt en gefragmenteerd. Toch wordt het gebruik van prokinetica bij het paard, bijvoorbeeld voor de behandeling van ileus, integraal geëxtrapoleerd vanuit de humane geneeskunde door een gebrek aan veterinaire prokinetica. Het is daarom zeker relevant dat de clinicus inzicht verwerft in de werking en rol van 5-HT ter hoogte van het equiene maagdarmsstelsel.

Enterale distributie van 5-HT

Bij de mens wordt 5-HT aangetroffen in de enterochromaffine cellen (EC-cellen) van de darmmucosa en in een aantal zenuwcellen en -vezels die deel uitmaken van de myenterische plexus en de submucose plexus (Costa *et al.*, 1982; Fujimiya *et al.*, 1997a). Het merendeel van het 5-HT dat wordt aangetroffen ter hoogte van het maagdarmsstelsel, bevindt zich in de secretoire granules van de EC-cellen. De EC-cellen maken deel uit van de entero-endocriene celpopulatie (Fujita *et al.*, 1988). Deze gespecialiseerde cellen spelen ter hoogte van het maagdarmsstelsel een belangrijke regulerende rol in de coördinatie van de digestieve fysiologie op moleculair niveau. De entero-endocriene cellen vertegenwoordigen ongeveer 1 op 100 epitheliale darmcellen en worden vooral aangetroffen ter hoogte van de basis van de darmcrypten. Er zijn minstens 20 verschillende typen entero-endocriene cellen beschreven. De secretoire granules van de entero-endocriene cellen zijn pleomorf met een diameter van 200 tot 400 nm. Zij zijn gelokaliseerd in het apicale en basolaterale cytoplasma (Fujimiya *et al.*, 1997b). De secretoire granules kunnen naast 5-HT ook peptiden bevatten, zoals cholecystokinine (CCK), neurotensine, glucagon-like peptide 1 (GLP-1) en peptide YY (PYY) (Cristina *et al.*, 1978). Ongeveer 50% van de entero-endocriene cellen bevat 5-HT; ze worden bij de mens aangetroffen over de volledige lengte van het maagdarmsstelsel (Sjolund *et al.* 1983). De entero-endocriene cellen die 5-HT bevatten, worden ook EC-

cellen genoemd, omdat zij via histologische zilverkleuring zichtbaar gemaakt kunnen worden.

EC-cellen zijn aan hun apex voorzien van microvilli om zo lumenale processen te detecteren. Verschillende factoren kunnen de secretie van 5-HT door exocytose van de secretoire granules stimuleren. Zo zijn er mechanische stimuli, zoals lumenale passage van chyme en lumenale distentie. Maar ook bacteriële toxinen, zoals cholera toxine en cytotoxische farmaca, die gebruikt worden in het kader van kankerbestrijding, kunnen de vrijstelling van 5-HT stimuleren (Minami *et al.*, 2003). 5-HT wordt vrijgesteld via de basolaterale membraan van de EC-cellen, rechtstreeks in de portale circulatie, waar het kan opgenomen worden door de bloedplaatjes. Op die manier reguleren de bloedplaatjes het gehalte aan vrij circulerend 5-HT en wordt ook rechtstreeks transport van 5-HT naar de hersenen mogelijk. Storingen in de opnameactiviteit voor 5-HT van de bloedplaatjes worden in verband gebracht met depressie (Muller-Oerlinghausen *et al.*, 2004).

Via de apicale membraan van de EC-cellen wordt nog een resterende hoeveelheid 5-HT rechtstreeks vrijgesteld in het darmlumen (Beubler, 1995; Fujimiya *et al.*, 1998). Dit mucosaal vrijgesteld 5-HT kan snel geïnactiveerd worden door de opname in mucosale epitheliale cellen, dankzij een specifiek transmembranair transportsysteem: "serotonin re-uptake transporter" of "SERT" genaamd (Chen *et al.*, 1998). Onderzoek heeft aangetoond dat sommige prokinetica deze lumenale vrijstelling van 5-HT stimuleren (Kojima, 1999). Maar of dit lumaal vrijgestelde 5-HT ook daadwerkelijk deelneemt aan regulerende processen wat betreft darmmotiliteit is nog steeds onderwerp van discussie (Fukumoto *et al.*, 2003).

Een abnormaal grote hoeveelheid EC-cellen en een verhoogde postprandiale vrijstelling van 5-HT worden aangetroffen bij mensen met het Prikkelbare Darmsyndroom (Irritable Bowel Syndrome of IBS) (Bearcroft *et al.*, 1998). Deze vaststelling wordt in verband gebracht met diarree en storingen in gastro-intestinale motiliteit.

Onderzoek werd verricht naar de aanwezigheid en distributie van 5-HT-bevattende cellen ter hoogte van het maagdarmsstelsel van het paard (Ceccarelli *et al.*, 1995). EC-cellen zijn in grote hoeveelheden aanwezig ter hoogte van de pylorus, in mindere mate ter hoogte van het fundusgedeelte van de maag, slechts in geringe hoeveelheid ter hoogte van het duodenum en zijn volledig afwezig ter hoogte van het meer distale deel van het maagdarmsstelsel. Deze distributie van

EC-cellen bij het paard is anders dan bij alle andere zoogdieren, waarbij deze cellen voorkomen over het volledige verloop van het maagdarmsstelsel (Rizzotti *et al.* 1979; Peranzi en Lehy, 1984; Krause *et al.*, 1985, Ceccarelli *et al.*, 1991).

Gastro-intestinale effecten van 5-HT

5-HT moduleert gastro-intestinale motiliteit, secreties en sensitiviteit. Het zou ook een noodzakelijke rol spelen in het optreden van het Migrerend Myoelektrisch Complex (MMC), het typische darmmotiliteitspatroon dat wordt gezien tussen twee maaltijden (Pineiro-Carrero *et al.*, 1991).

5-HT medieert zijn effect op het gastro-intestinaal stelsel door de activering van 5-HT-receptoren. Hierbij dient vooreerst gedacht te worden aan de directe activering van enterale serotonerge receptoren. Deze receptoren kunnen neuronaal of myogeen gelokaliseerd zijn. Acetylcholine speelt een belangrijke rol als contractiele neurotransmitter ter hoogte van het maagdarmsstelsel. De activering van 5-HT₄-receptoren gelegen op cholinerge neuronen, kan de vrijstelling van acetylcholine vergemakkelijken. Van dit effect werd gebruik gemaakt bij de ontwikkeling van verschillende prokinetica. Wanneer de 5-HT-receptor zich op de gladde spiercellen van de darm (myogene lokalisatie) bevindt, zal een contractiel of relaxerend effect optreden afhankelijk van het receptor subtype dat geactiveerd wordt (cf. infra).

Zeker bij in vivo studies moet men er rekening mee houden dat de invloed van serotonerge farmaca op het gastro-intestinaal stelsel ook kan berusten op de interactie met 5-HT-receptoren gelegen buiten het maagdarmskanaal. Zo werden bij de rat indicaties bekomen voor de aanwezigheid van 5-HT_{1A}-receptoren in het centrale zenuwstelsel, waarvan de stimulatie een contractie van de maag uitlokte (Rouzade *et al.*, 1998).

5-HT-receptor subtypes en "second messenger" systemen

5-HT orkestreert zijn diversiteit aan effecten via verschillende receptorsubtypes, waarvan er tot op heden bij zoogdieren 14 werden geïdentificeerd en gekarakteriseerd. De nomenclatuur van 5-HT-receptoren heeft een hele evolutie ondergaan die in drie belangrijke episoden verliep. Eerst waren er Gaddum en Picarelli die het onderscheid maakten tussen twee tryptaminereceptoren: de M- en de D-receptor, naar gelang hun sensitiviteit voor morfine en dibenzylamine (Gaddum en Picarelli, 1997). Enkele tientallen jaren later werden de 5-HT₁-, 5-HT₂- en 5-HT₃-receptoren

voorgesteld, waarvan de twee laatstgenoemde Gaddum en Picarelli's D- en M-receptoren vertegenwoordigen (Bradley *et al.*, 1986). De derde en laatste classificatie werd voorgesteld door Hoyer *et al.* en dient als basis voor de verdere benoeming van nieuw ontdekte 5-HT-receptoren (Hoyer *et al.*, 1994). Tot op heden werden de volgende receptoren geclassificeerd: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5a}, 5-HT_{5b}, 5-HT₆ en 5-HT₇-receptoren. Hoofdletters worden gebruikt om receptoren te benoemen waarvoor in vivo een duidelijke fysiologische rol werd aangetoond. Daaronder verstaat men dat de activering van de receptor in zijn natuurlijke omgeving moet leiden tot een duidelijk waarneembaar en meetbaar proces, bijvoorbeeld enzyminductie, wijzigingen in ionpermeabiliteit van de celmembranen of contractie van gladde spiercellen (Hoyer en Martin, 1997). Bovenstaande classificatie werd erkend en goedgekeurd door de "The Receptor Nomenclature Committee of the International Union of Pharmacology" of NC-IUPHAR. De 5-HT_{1p}-receptor is wat dat betreft een buitenbeentje. Zijn aanwezigheid ter hoogte van het enterale zenuwstelsel wordt gesuggereerd door bepaalde onderzoekers. Anderen vermoeden dat het om de 5-HT_{1B}-receptor gaat. In de classificatie van IUPHAR is deze 5-HT_{1p}-receptor niet opgenomen.

Zoals eerder vermeld, kunnen de serotonerge receptoren neuronaal gelokaliseerd zijn, waar zij na activering de vrijstelling van de neurotransmitters beïnvloeden. Maar ook een rechtstreekse lokalisatie op de membraan van de gladde spiercel is mogelijk. Volgende 5-HT-receptoren werden reeds beschreven rechtstreeks op de gladde spiercel: de 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₄ en 5-HT₇-receptor.

Farmacologisch maakt men het onderscheid tussen twee grote 5-HT-receptorfamilies: de G-proteïnegekoppelde receptoren (5-HT_{1,2,4,5,6,7}) en de ligandgeopereerde ionkanalen (5-HT₃ receptoren).

G-proteïne staat voor guaninenucleotidebindend proteïne. G-proteïnegekoppelde receptoren zijn opgebouwd uit 7 transmembranaire α -helices, voorzien van 3 extracellulaire en 3 intracellulaire aminozuurbogen (Figuur 1). De derde intracellulaire lus is de zone waar het G-proteïne bindt. De bindingsplaats voor de agonist wordt vaak aangetroffen in de zone die wordt ingenomen door de transmembranaire structuren.

G-proteïnen zijn membraangebonden proteïnen, die receptoren verbinden met een intracellulaire "second messenger", zoals bijvoorbeeld adenylylatcy-

clase of fosfolipase C. Hierbij kan er sprake zijn van een positieve (s) of negatieve (i) koppeling. G_s stimuleert adenylaacyclase, terwijl G_i adenylaacyclase inhibeert. G_q stimuleert fosfolipase C met omzetting van fosfatidylinositol (PIP_2) in inositoltrisfosfaat (IP_3) en diacylglycerol (DAG) tot gevolg.

De binding van 5-HT op een G-proteïnegekoppelde receptor, die werkt via adenylaacyclase, induceert de volgende cascade (Figuur 2).

De binding van de agonist op de receptor activeert de koppeling van de receptor met het G-proteïne en de omzetting van guanosinedifosfaat (GDP) in guanosinetrifosfaat (GTP) op de G_α subunit van het G-proteïne. Het G-proteïne valt uit elkaar in enerzijds een $\beta\gamma$ -subeenheid en anderzijds een α -subeenheid, die zorgt voor de activering (α_s) of inhibitie (α_i) van adenylaacyclase, waardoor de omzetting van ATP in cAMP respectievelijk gestimuleerd of geïnhibeerd wordt. Het daaropvolgend effect hangt af van de lokalisatie van de betrokken receptor. Een toename van cAMP in hartspiercellen leidt tot verhoogde contractie. In vasculair en gastro-intestinaal glad spierweefsel daarentegen leidt een toename van cAMP tot relaxatie. 5-HT₄-, 5-HT₆- en 5-HT₇-receptoren zijn positief gekoppeld aan adenylaacyclase, terwijl 5-HT₁- en 5-HT₅-receptoren negatief gekoppeld zijn aan adenylaacyclase.

Na de binding van 5-HT op een G-proteïnegekoppelde receptor die werkt via fosfolipase C, grijpt de volgende cascade plaats (Figuur 3).

Het proces begint zoals beschreven voor 5-HT-receptoren, die werken via adenylaacyclase, maar de losgekomen α -subeenheid van het G-proteïne zorgt nu voor de activering van fosfolipase C, dat op zijn beurt membraangebonden PIP_2 splitst, met vrijstelling van IP_3 en DAG. Een stijging van het intracellulaire IP_3 zorgt voor onder andere een stimulatie van de vrijzetting van Ca^{2+} uit het endoplasmatisch reticulum door de activering van IP_3 -geopereerde Ca^{2+} -kanalen, terwijl DAG instaat voor de activering van proteïnekinasen, die een aantal biologische effecten mediëren. 5-HT₂-receptoren zijn positief gekoppeld aan fosfolipase C.

Sommige receptoren kunnen aan meerdere G-proteïnen tegelijk gekoppeld zijn. Zo kan 1 receptor 100 G_s moleculen activeren en kan er een enorme amplificatie plaatsvinden. Sommige G-proteïnen kunnen aan meerdere "second messengers" tegelijk gekoppeld zijn en een welbepaald G-proteïne is in twee verschillende cellen niet altijd aan dezelfde "second messenger" gelinkt. Er zijn humane aandoeningen

die hun oorsprong kennen in een verstoorde activiteit van deze G-proteïnen. Bij cholera bijvoorbeeld zorgt het choleratoxine, geproduceerd door *Vibrio cholerae*, ervoor dat het G_s -proteïne in de cel in een irreversibele actieve vorm voorkomt, waardoor er een zeer grote hoeveelheid cAMP in de enterocyten wordt geproduceerd, met een enorm waterverlies naar de darm als gevolg (Farfel *et al.*, 1999).

Naast de G-proteïnegekoppelde receptoren heeft men de ligandgeopereerde ionkanalen. Door directe aanwezigheid van de bindingsplaats van de agonist op het ionkanaal zorgt dit type receptor voor snelle transmissie van zenuwpulsen ter hoogte van synapsen. De 5-HT₃-receptor is de enige ionkanaalgebonden serotonerge receptor (Figuur 4). Tot nog toe werd uitsluitend een neuronale lokalisatie van de 5-HT₃-receptor beschreven. De binding van 5-HT op de receptor leidt tot influx van Na^+ en Ca^{2+} in de zenuwcel en daaropvolgend tot depolarisatie.

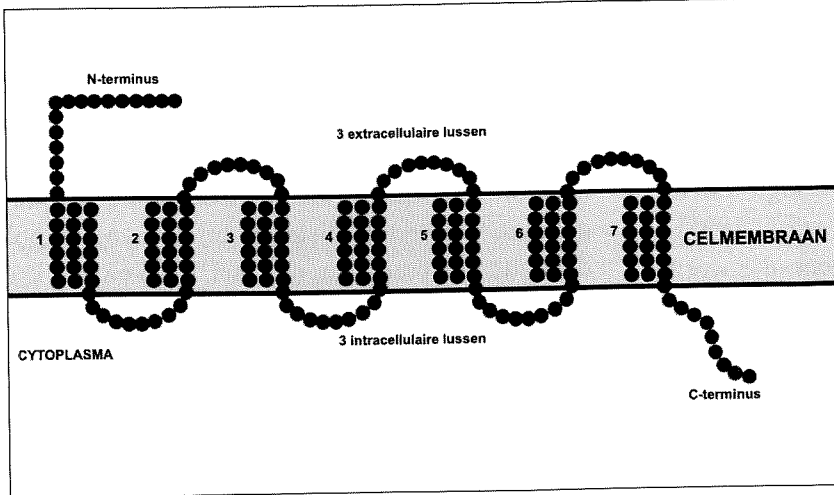
De 5-HT₃-receptor heeft een typische pentamere structuur. De binding van een agonist op de receptor zorgt voor rotatie van de subeenheden waardoor het ionkanaal zich opent (Mott *et al.*, 2001; Unwin, 2000).

Voor alle 5-HT-receptoren geldt dat bij persistente aanwezigheid van de agonist, desensitatie of internalisatie van de receptor kan plaatsgrijpen. Dankzij deze twee remmende feed-back mechanismen kan de cellulaire respons gereguleerd worden. Bij desensitatie neemt de receptor een soort inerte, rustende vorm aan, terwijl internalisatie kan plaatsgrijpen dankzij een proces van endocytose. De gevoeligheid van de 5-HT-receptoren voor desensitatie is niet constant en kan onder andere gewijzigd worden door factoren die de binding van de agonist op de receptor beïnvloeden (Lalley *et al.*, 1994).

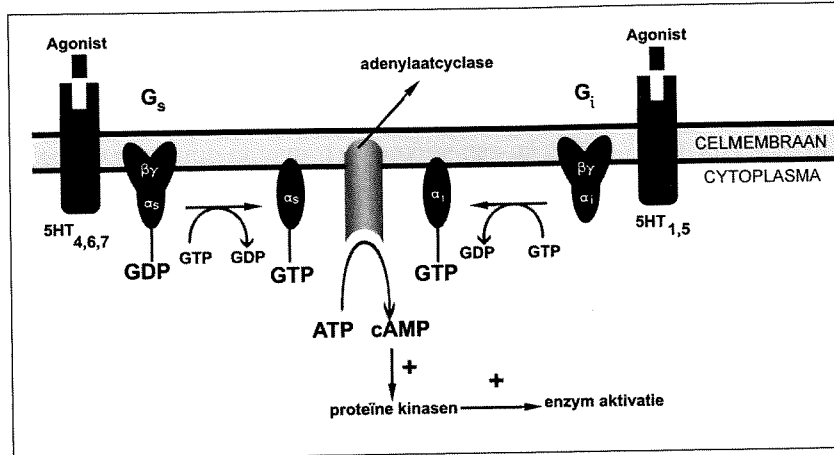
5-HT-receptor subtypen en gastro-intestinale motiliteit

Tot op heden werden de 5-HT_{1A}-, 5-HT_{1B}-, 5-HT_{2A}-, 5-HT_{2B}-, 5-HT₃-, 5-HT₄- en 5-HT₇-receptoren in verband gebracht met de regulatie van gastro-intestinale motiliteit. Deze receptoren kunnen gelokaliseerd zijn ter hoogte van het centrale zenuwstelsel ofwel ter hoogte van de darm zelf.

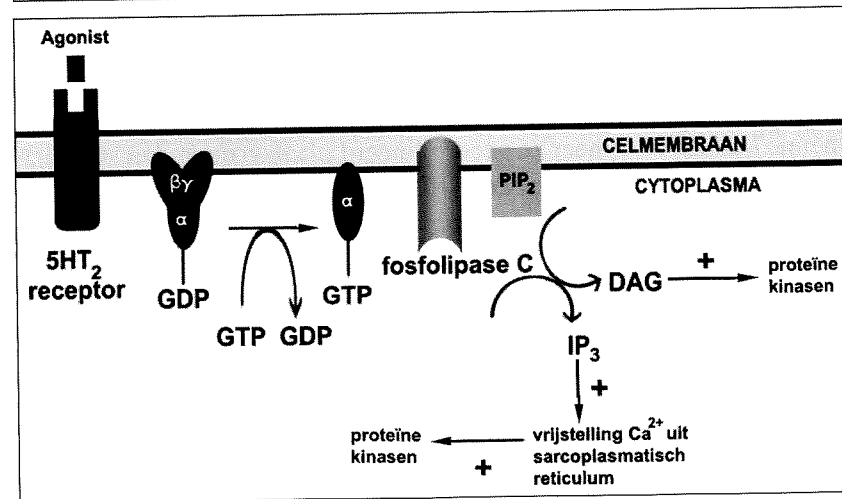
De stimulatie van 5-HT_{1A}-receptoren in de hersenen van de rat lokt gastrale contracties uit (Rouzade *et al.*, 1998). 5-HT_{1A}-receptoragonisten induceren bij de hond gastrale relaxatie, die geblokkeerd wordt door vagotomie. Of de betrokken receptoren centraal dan wel op afferente vagale vezels gelegen zijn, kon uit



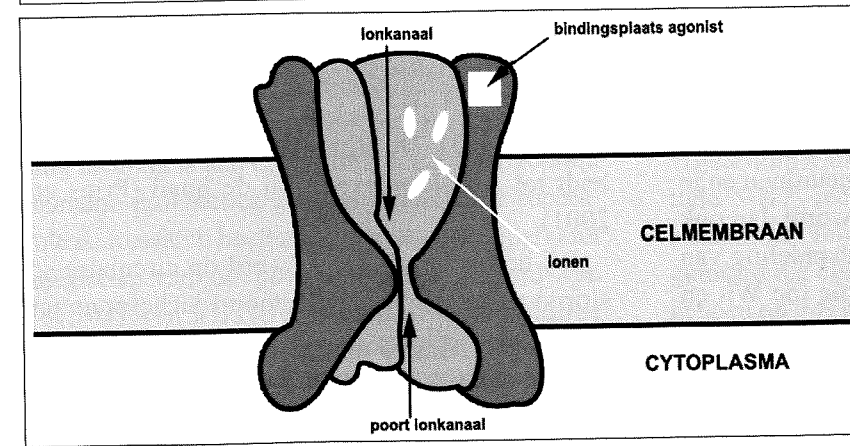
Figuur 1. Karakteristieke bouw van de G-proteïnegekoppelde receptor.



Figuur 2. Activeringscascade van G-proteïnegekoppelde serotonerge receptorsubtypes, positief (G_s) of negatief (G_i) gekoppeld aan adenylylase.



Figuur 3. Activeringscascade van G-proteïnegekoppelde serotonerge receptorsubtypes, gekoppeld op fosfolipase C.



Figuur 4. Bouw van ligandgeopeerde ionkanalen.

deze in vivo studie niet worden opgemaakt (Janssen *et al.*, 2003).

Perifere 5-HT_{1A}-receptoren werden tot nog toe enteraal enkel neurogeen aangetoond en enkel in verband gebracht met relaxatie. In het ileum van de cavia mediëren 5-HT_{1A}-receptoren ter hoogte van de plexus myentericus relaxatie (Forster *et al.*, 1995).

De 5HT₁-receptoragonist sumatriptan, die wordt aangewend bij de behandeling van migraine, lokt bij de mens in vivo maagrelaxatie en een verminderde gevoeligheid voor maagdistentie uit. Dit wordt in verband gebracht met de stimulatie van perifere 5-HT_{1p}-receptoren. Men ziet een premature fase 3 van het MMC ter hoogte van het jejunum, terwijl fase 3 van het MMC ter hoogte van de maag wordt onderdrukt (Tack *et al.*, 1998; Tack *et al.*, 2000).

Tot nog toe heeft men verschillende malen in vitro kunnen aantonen dat 5-HT₂-receptoren in staat zijn de gastro-intestinale motiliteit te beïnvloeden, in vivo echter blijven de gegevens beperkt (Matsuda *et al.*, 2000). De stimulatie van myogeengelokaliseerde enterale 5-HT₂-receptoren leidt tot contracties. In vitro werd bij de cavia, de rat en de hond aangetoond dat serotonine gastro-intestinale contracties kan uitlokken via enteraal gelokaliseerde 5-HT_{2A}-en 5-HT_{2B}-receptoren (Briejer *et al.*, 1995a; Baxter *et al.*, 1994; Prins *et al.*, 1997; Prins *et al.*, 2001). Bij de mens werden contractiele 5-HT_{2A}-receptoren aangetoond op de gladde spiercellen van de dunne darm (Borman en Burleigh, 1997). Via immunohistochemie kunnen 5-HT_{2B}-receptoren aangetoond worden in foetaal weefsel van maag en dunne darm, gelokaliseerd zowel rechtstreeks op de gladde spiercellen als op de enterale neuronen. 5HT stimuleert in vitro de ontwikkeling en differentiatie van enterische neuronen door de activering van 5-HT_{2B}-receptoren (Fiorica-Howells *et al.*, 2000).

5-HT kan het spijsverteringsstelsel beïnvloeden door in te werken op zowel centraal als perifeer gelokaliseerde 5-HT₃-receptoren.

De 5-HT₃-receptorantagonist ondasteron, onderdrukt de misselijkheid die vaak geassocieerd is met chemotherapie door inhibitie van 5-HT₃-receptoren, gelegen op perifere, vagale, afferente neuronen en in de hersenen. Deze 5-HT₃-antagonist wordt dan ook gebruikt als therapeuticum voor de behandeling van nausea geassocieerd met chemotherapie (de Wit en van Alphen, 2003).

Onderzoek met 5-HT₃-receptorantagonisten bij de mens suggereert dat 5-HT via 5-HT₃-receptoren bijdraagt tot de bevordering van de maaglediging en van

de darmtransit (Akkermans *et al.*, 1988; Houghton *et al.*, 2000). Bij de rat ziet men inderdaad een dosisafhankelijke stimulatie van het MMC ter hoogte van de dunne darm door de stimulatie van 5-HT₃-receptoren (Lördal en Hellström, 1999). 5-HT₃-receptorantagonisten onderdrukken viscerale nociceptie ten gevolge van rectale distentie bij de hond en colon-distentie bij patiënten met het Prikkelbare Darm-syndroom (Irritable Bowel Syndrome of IBS), door de inhibitie van viscerale, afferente neuronen die pijnboodschappen doorsturen naar de hersenen (Balfour *et al.*, 2000). 5-HT₃-receptorantagonisten worden momenteel dan ook als therapeuticum gebruikt bij mensen met IBS (De Ponti *et al.*, 2001). Talrijke studies hebben aangetoond dat 5-HT₄-receptorantagonisten een stimulerend effect hebben op de gastro-intestinale motiliteit, zoals een versnelde maaglediging en een versnelde transit in dunne en dikke darm bij de mens. Tot nog toe werden hierbij uitsluitend perifeer bedongen enterale, serotonerge effecten beschreven.

Samenvattend kan gesteld worden dat de enterale 5-HT₄-receptoren zich vooreerst bevinden op cholinerge neuronen, waar ze de vrijstelling van acetylcholine bevorderen en dus contractie in de hand werken (Prins *et al.*, 2000a). Daarnaast bevinden zich 5-HT₄-receptoren op de gladde spiercellen van het ileum en colon, waar ze relaxatie uitlokken (Prins *et al.*, 2000b). Mogelijk verklaren beide effecten, wanneer ze gecoördineerd plaatsgrijpen, het stimulerend effect van 5-HT₄-agonisten op de darmtransit.

Tot slot zijn er de 5-HT₇-receptoren. Dit receptor-subtype wordt hoofdzakelijk aangetroffen ter hoogte van het centraal zenuwstelsel (Neumaier *et al.*, 2001). 5-HT₇-receptor mRNA werd echter ook aangetroffen ter hoogte van het hart en het maagdarmstelsel van de rat (Plassat *et al.*, 1993). De betrokkenheid van de 5-HT₇-receptor bij de gastro-intestinale motiliteit kon tot nog toe uitsluitend in vitro aangetoond worden op geïsoleerde darmsegmenten. Bij de cavia onderdrukt 5-HT de peristaltische reflex ter hoogte van het ileum door de stimulatie van 5-HT₇-receptoren (Tuladhar en Naylor, 2003). De stimulatie van 5-HT₇-receptoren leidt tot antrale relaxatie bij de hond (Prins *et al.*, 2001).

Bij het paard (Tabel 1) werd op circulaire spierstrips van het jejunum aangetoond dat het contractiele effect van 5-HT duidelijk gereduceerd werd door de 5-HT₂-receptor antagonist ketanserine en de 5-HT₃-receptorantagonist tropisetron, terwijl een 5-HT₄-receptorantagonist geen effect had. Het stimulerend

Tabel 1. Gedocumenteerde invloed van 5-HT via 5-HT receptorsubtypes in het gastro-intestinale stelsel van mens en paard.

	5-HT _{2A}	5-HT ₃	5-HT ₄
MENS			
Maag	contractie ¹	contractie ²	contractie ³
Dunne darm			
Dikke darm		contractie ²	contractie ³ relaxatie ⁴
PAARD			
Jejunum	contractie ⁵	contractie ⁵	contractie ⁶
Flexura pelvina		contractie ⁶	

1: Via musculaire 5-HT_{2A}-receptoren.

2: Mogelijk via 5-HT₃-receptoren op vagale, afferente neuronen.

3: Via neuronale 5-HT₄-receptoren op enterische, cholinerge neuronen.

4: Via musculaire 5-HT₄-receptoren.

5: Effect niet geblokkeerd door atropine en TTX, dus wellicht via musculaire receptoren.

6: TTX werd niet getest, zodat geen differentiatie neuronaal/musculair mogelijk is.

effect van 5-HT werd niet beïnvloed door atropine noch door tetrodotoxine, een toxine dat zenuwgeleiding inhibeert (Nieto *et al.*, 2000). Dit suggereert dus dat 5-HT zijn effect uitlokt via 5-HT₂- en 5-HT₃-receptoren, actief via niet-neuronale, niet-cholinerge weg. Dit is merkwaardig daar 5-HT₃-receptoren tot nu toe enkel neuronaal werden aangetoond.

In circulaire spierstrips van het ileum en de pelvische flexuur bleek het contractiel effect van 5-HT wel enigszins gereduceerd door een 5-HT₄-receptor-antagonist, waardoor de aanwezigheid van 5-HT₄-receptoren gesuggereerd wordt. Toch bleek de 5-HT₄-receptoragonist HTF 919 enkel een duidelijk effect te hebben ter hoogte van de pelvische flexuur. Ook een 5-HT₃-receptorantagonist reduceerde het effect van 5-HT, zodat ook 5-HT₃-receptoren betrokken zijn (Weiss *et al.*, 2002).

Het is duidelijk dat de distributie van 5-HT-receptoren in het maagdstelsel bij het paard zeker niet volledig analoog is aan die bij de mens en dat gebruik van humane prokinetica geen gegarandeerde succesformule is. Research heeft zich bij het paard beperkt tot het opsporen van de potentiële aanwezigheid van 5-HT₂-, 5-HT₃- en 5-HT₄-receptoren, in aansluiting met de humane situatie. Het zou best kunnen dat andere 5-HT-receptorsubtypen een grotere rol spelen bij het paard en dienst kunnen doen als farmacologisch doelwit voor motiliteitsmodulerende therapieën.

Gebruik van 5-HT-receptoragonisten en antagonist bij de behandeling van gastro-intestinale aandoeningen

De toegenomen kennis over de complexe werking van 5-HT ter hoogte van het maagdstelsel heeft geleid tot de ontwikkeling van een reeks motiliteitsmodulerende farmaca ter behandeling van gastro-intestinale aandoeningen. Enkele van deze geneesmiddelen worden ook aangewend bij de behandeling van paarden met ileus, zij het tot nu toe met erg wisselvallige resultaten.

Cisapride wordt in de humane geneeskunde aangewend ter behandeling van refluxoesofagitis, gastroparese en chronische intestinale pseudo-obstructie. Wegens de mogelijke cardiale neveneffecten, met name een verlenging van het QT-interval, wordt het nu enkel nog in beperkte gevallen aangewend. Cisapride activeert vooral presynaptische 5-HT₄-receptoren op cholinerge neuronen en stimuleert aldus de vrijstelling van acetylcholine. Cisapride is een partiële 5-HT₄-receptoragonist en een 5-HT₃-receptorantagonist (Taniyama *et al.*, 1991). Recent werd aangetoond dat cisapride ook een agonistisch effect kan hebben op 5-HT₁- en motilinereceptoren, terwijl 5-HT₂-receptoren door deze stof worden geblokkeerd (Brier *et al.*, 1995b). Ter hoogte van het antrum van de hond werd een non-serotonerg werkingsmechanisme van cisapride aangetoond (de Ridder en Schuurkes,

1993). Men kan stellen dat de werking van cisapride sterk verschilt van diersoort tot diersoort en dat het waargenomen effect verschilt naar gelang de plaats in het gastro-intestinaal stelsel (Goldhill *et al.*, 1997; Tonini *et al.*, 1989). Bij het paard is de in vitro respons op cisapride ter hoogte van de circulaire spierlaag van het jejunum niet beïnvloedbaar door tetrodotoxine en atropine, wat wijst op een non-cholinerg, neuronaal-onafhankelijk werkingsmechanisme. Volgens Nieto *et al.* (2000) medieert cisapride bij het paard zijn contractiel effect hoofdzakelijk via de activering van 5-HT₂-receptoren. Men komt tot dit besluit omdat de contractiele respons geïnduceerd door cisapride nagenoeg volledig kan opgeheven worden door middel van ketanserine, een specifieke 5-HT₂-receptorantagonist. Toch is dit een zeer eigenaardige vaststelling vermits de tot nog toe beschreven interacties van cisapride met 5-HT₂-receptoren steeds blokkerend waren. In een in vitro studie op weefsel van ileum en flexura pelvina werd wel enige evidentie voor de aanwezigheid van 5-HT₄-receptoren gevonden, zodat een interactie van cisapride met 5-HT₄-receptoren op dit niveau niet kan uitgesloten worden (Weiss *et al.*, 2002). Een andere mogelijkheid is dat cisapride bij het paard door de activering van de respectievelijke receptoren zorgt voor de vrijstelling van een andere effector, bijvoorbeeld motiline. Bij het paard werd nog nooit onderzocht of de toediening van serotonerge agonisten gepaard gaat met een stijging in de plasmaspiegels van motiline. Dit werd al wel aangetoond voor cisapride bij mens en hond (Song *et al.*, 1997). Tot slot zou het ook kunnen dat cisapride bij het paard zijn contractiele effect medieert door de blokkade van ether-a-go-go K⁺-kanalen (ERG-K⁺-kanalen). Door de blokkade van deze K⁺-specifieke kanalen kan geen uitstroom van K⁺ plaatsgrijpen, wat zorgt voor depolarisatie en vervolgens contractie van de gladde spiercellen (Lillich *et al.*, 2003). De aanwezigheid van deze ERG-K⁺-kanalen werd aangetoond in het maagdarmsstelsel van het paard van duodenum tot colon. Uitgetest in het jejunum bleken antagonisten van deze kanalen een contractiel effect te hebben dat vergelijkbaar was met dat van cisapride. Interactie met dit type K⁺-kanalen is ook verantwoordelijk voor de aritmieën die kunnen voorkomen bij gebruik van cisapride bij de mens (Mohammad *et al.*, 1997). Bij het paard worden deze ERG-kanalen ook tot expressie gebracht ter hoogte van het myocard. Voorzichtigheid is dus geboden (Finley *et al.*, 2002). Samengevat kan gesteld worden dat wanneer de reeds geïdentificeerde equiene populatie van 5-HT

receptoren in overweging wordt genomen, cisapride niet het ideale prokineticum lijkt te zijn voor het paard.

Verdere research heeft geleid tot de ontwikkeling van de partiële 5-HT₄-receptoragonist tegaserod. Dit geneesmiddel faciliteert de colontransit bij de mens en wordt aangewend bij obstipatie-dominante Prikkelbare Darmsyndroom (IBS) (Appel *et al.*, 1997). Bij paarden echter lijkt het in vitro contractiel effect van tegaserod op het ileum en de flexura pelvina eerder beperkt (Weiss *et al.*, 2002).

Het gebruik van de recent ontwikkelde 5-HT₃-antagonisten ondansetron, granisetron, alosetron en cilansetron, lijkt voor het paard eerder tegenaangewezen, gezien het contractiele belang van deze receptor voor de intestinale motoriek. Ondansetron wordt in de humane geneeskunde aangewend in de bestrijding van nausea geassocieerd met chemotherapie en van viscerale hypersensitiviteit.

Het mag duidelijk zijn dat het gebruik van humane prokinetica onder veterinaire omstandigheden zeker geen garantie biedt voor een goede klinische efficaciteit. Bovendien vereist een oordeelkundig gebruik van deze farmaca een gedegen kennis van hun werkingsmechanisme en van de verschillende equiene enterale 5-HT-receptortypen.

Serotonine en endotoxemie

Daar het gebruik van prokinetica zich vooral richt op paarden met ileus en daar ileus in de meeste gevallen gepaard gaat met endotoxemie, moet daarmee rekening gehouden worden tijdens de evaluatie van de klinische efficaciteit van deze farmaca. Het klassieke scenario is dat van het humane prokineticum dat op basis van in vitro en in vivo onderzoek bij gezonde paarden als veelbelovend wordt naarvoor geschoven, terwijl in de praktijksituatie bij paarden met ileus de resultaten niet bevredigend zijn. Enerzijds is het tot nu toe onmogelijk de typische gastro-intestinaal geassocieerde endotoxemie, die wordt aangetroffen bij koliekpatiënten met ileus, experimenteel na te bootsen (King *et al.*, 1991). Anderzijds beschikt men niet over niet-invasieve meettechnieken bij het paard, om de gastro-intestinale motiliteit te evalueren. Dit heeft tot gevolg dat tijdens klinische veldstudies de efficaciteit van de gebruikte prokinetica subjectief wordt geëvalueerd en dat deze experimenten dus een echt dubbelblind karakter missen.

Het zou kunnen dat tijdens koliek of ileus grote hoeveelheden 5-HT worden vrijgesteld in de bloedbaan van het paard, enerzijds door de vrijstelling van

vasoactieve stoffen die bloedplaatjes activeren, anderzijds door de rechtstreekse vrijstelling van 5HT uit de EC-cellen van ischemische darmsegmenten.

Men weet dat bij het paard tijdens intestinale ischemie de permeabiliteit van de intestinale mucosa toeneemt. Dit leidt tot translocatie van endotoxinen en diëtaire amines, waaronder 5HT, vanuit de chyme naar de systemische circulatie (Snyder, 1989; Morris, 1991; Turnage *et al.*, 1994). 5-HT is een prostaglandinesynthetase-onafhankelijke activator van bloedplaatjes, die zelfs de werking van andere bloedplaatjesactivatoren kan versterken (Holmsen, 1985). In het kader van het onderzoek naar de ethiopathogenese van laminitis bij paarden werd reeds aangetoond dat tijdens IV-toediening van *E. coli* lipopolysacharide, voor de experimentele nabootsing van endotoxemie, een duidelijke stijging waar te nemen is van het plasma 5HT en tromboxane- β_2 gehalte. Deze laatste stof wordt vrijgesteld bij de activering van bloedplaatjes. (Bailey *et al.*, 2000; Elliott *et al.*, 2003; Menzies-Gow *et al.*, 2004).

Anderzijds kan ook 5HT vrijgesteld worden uit de EC-cellen van necrotische darmsegmenten. Zo wordt bij ratten en honden een duidelijke stijging waargenomen van het plasmagehalte van 5-HT in geval van intestinale ischemie en reperfusie (Teramoto *et al.*, 1998; Nakamura *et al.*, 2001). Intestinale obstructie gaat bij de mens gepaard met een uitgesproken toename van het plasmagehalte van 5-HT (Prasad *et al.*, 1977). Hetzelfde wordt vastgesteld in geval van chemotherapie, waarbij bij de mens grote hoeveelheden endogeen 5-HT vrijkomen door schade aangericht aan enterocyten en EC-cellen (Tan, 2003).

Tot slot kan ook een verminderde 5-HT-opnamecapaciteit van de bloedplaatjes leiden tot gestegen plasma 5-HT-waarden. De opname van 5-HT door bloedplaatjes blijkt het belangrijkste regulatiemechanisme te zijn bij de controle van het vrije plasma 5-HT. Deze opnamecapaciteit is echter niet constant en kan door verschillende factoren beïnvloed worden. Bij de mens is gebleken dat deze opnamecapaciteit afneemt na abdominale chirurgie (Naesh *et al.*, 2001).

Een stijging van het plasma 5-HT-gehalte bij koliek- of ileuspatiënten kan belangrijke implicaties hebben. Enerzijds werd bij het paard zowel in vitro als in vivo al aangetoond dat 5-HT een potente vasoconstrictor is (Elliott *et al.*, 2003; Bailey *et al.*, 2003; Menzies-Gow *et al.*, 2004). Accumulatie van 5HT in de systemische circulatie zou verdere intestinale ischemie in de hand kunnen werken. Verder werd bij de rat aangetoond dat 5-HT enterale endotoxine trans-

locatie stimuleert, wat op zijn beurt het proces van endotoxemie in de hand werkt. (Yamada *et al.*, 2003). Dit zou ook bij het paard een rol kunnen spelen.

Tot slot kunnen hoge mucosale en plasma 5-HT-gehalten een invloed uitoefenen op de enterale expressie van bepaalde 5-HT-receptorsubtypen. Zo treedt in aanwezigheid van een grote hoeveelheid agonist, bij bepaalde receptorsubtypen, een natuurlijke "down regulation" op doordat de receptor minder gevoelig wordt voor de agonist of doordat hij internaliseert in de cel. Beide processen vertegenwoordigen het begrip "receptor desensitisatie". Chen *et al.* toonden een typisch afwijkend darmmotiliteitspatroon aan bij SERT knock-out muizen. Deze muizen missen het "serotonin reuptake transporter" systeem, waardoor hoge gehalten 5-HT voorkomen. Dit leidt tot typische episoden van diarree waarbij de afwezigheid van het SERT de serotonerge transmissie potentialiseert. Deze episoden van diarree worden afgewisseld door episoden van een sterk afgenomen darmmotiliteit te wijten aan 5-HT-receptordesensitisatie in aanwezigheid van een overmaat van 5-HT (Chen *et al.*, 2001).

Doe-Young *et al.* suggereren zelfs dat deze overmaat 5-HT de klinische efficiëntie van aangewende serotonerge prokinetica negatief kan beïnvloeden (Doe-Young *et al.*, 2000).

CONCLUSIE

Samengevat kan gesteld worden dat tot op heden de kennis over serotonine als gastro-intestinale neurotransmitter bij het paard erg beperkt is. Ondanks het feit dat tot op heden geen all-round efficiënte prokinetica voorhanden zijn voor de behandeling van equiene koliekpatiënten met ileus, werd er slechts in zeer beperkte mate onderzoek verricht naar de mogelijkheden die geboden worden op het vlak van farmacologische modulatie van het enterische, serotonerge zenuwstelsel. Het empirisch gebruik van humane prokinetica bij paarden blijkt lang niet altijd een succesformule te zijn. Wat betreft serotonerg modulerende, humane prokinetica moet in dit verband rekening gehouden worden met het feit dat de humane 5-HT-receptorpopulatie, die bijdraagt tot de regulatie van enterale motoriek, niet identiek is aan die van het paard. Meer onderzoek is op dit vlak gewenst.

Verder kan gesteld worden dat de noodzaak van het gebruik van prokinetica bij koliekpatiënten zich vooral voordoet na een operatieve ingreep bij patiënten met meerdere meters necrotische darm of overvulling met eiwit- of koolhydraatrijk voedsel.

Endotoxemie is dus een niet te verwaarlozen factor. Echter, de kennis van de mogelijke effecten van endotoxemie op het enterale, serotonerge zenuwstelsel van het paard is zeer beperkt. Wil men komen tot een efficiënt en wetenschappelijk onderbouwd gebruik van prokinetica bij koliekpatiënten, dan zal ook hier meer onderzoek moeten verricht worden.

LITERATUUR

- Akkermans L.M.A., Vos A., Hoekstra A., Roelofs J.M., Horowitz M. (1988). Effect of ICS 205-930 (a specific 5-HT₃ receptor antagonist) on gastric emptying of a solid meal in normal subjects. *Gut* 29, 1249-1252.
- Appel S., Kumle A., Meier R. (1997). Clinical pharmacodynamics of SDZ HTF 919, a new 5-HT₄ receptor agonist, in a model of slow colonic transit. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 62, 546-555.
- Bailey S.R., Cunningham F.M., Elliott J. (2000). Endotoxin and dietary amines may increase plasma 5-hydroxytryptamine in the horse. *Equine Veterinary Journal* 32, 497-504.
- Bailey S.R., Wheeler-Jones C., Elliott J. (2003). Uptake of 5-hydroxytryptamine by equine digital vein endothelial cells: inhibition by amines found in the equine caecum. *Equine Veterinary Journal* 35, 164-169.
- Balfour J.A., Goa K.L., Perry C.M. (2000). Alosetron. *Drugs* 59, 511-518.
- Barnes N.M., Sharp T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38, 1083-1152.
- Baxter G.S., Murphy O.E., Blackburn T.P. (1994). Further characterization of 5-hydroxytryptamine receptors (putative 5-HT_{2B}) in rat stomach fundus longitudinal muscle. *British Journal of Pharmacology* 112, 323-331.
- Bearcroft C.P., Perrett D., Farthing M.J. (1998). Postprandial plasma 5-hydroxytryptamine in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: a pilot study. *Gut* 42, 42-46.
- Beubler E. 1995. Serotonin as an internal secretagogue. In Gaginella T.S. and Galligan J.J. (editors). *Serotonin and gastrointestinal function*, Boca Raton, CRC Press, p. 85-108.
- Borman R.A., Burleigh D.E. (1997). 5-HT_{1D} and 5-HT_{2B} receptors mediate contraction of smooth muscle in human small intestine. *Annals of the New York Academy of Sciences* 812, 222-223.
- Bradley P.B., Engel G., Feniuk W., Fozard J.R., Humphrey P.P., Middlemiss D.N., Mylecharane E.J., Richardson B.P., Saxena P.R. (1986). Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 25, 563-576.
- Briejer M.R., Akkermans L.M.A., Schuurkes J.A.J. (1995a). Interactions of serotonin with multiple receptors and neurotransmitters in the guinea-pig isolated colon. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 329, 121-133.
- Briejer M.R., Akkermans L.M., Schuurkes J.A. (1995b). Gastrointestinal prokinetic benzamides: the pharmacology underlying stimulation of motility. *Pharmacological Reviews* 47, 631-51.
- Bulbring E., Crema A. (1959). The release of 5-hydroxytryptamine in relation to pressure exerted on the intestinal mucosa. *Journal of Physiology (London)* 146, 18-28.
- Ceccarelli P., Pedini V., Gargiulo A.M. (1991). Enterendocrine cells in sheep fetuses. *Small Ruminant Research* 6, 85-93.
- Ceccarelli P., Pedini V., Gargiulo M. (1995). Serotonin-containing cells in the horse gastrointestinal tract. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 24, 97-99.
- Chen J.X., Pan H., Rothman T.P., Wade P.R., Gershon M.D. (1998). Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *American Journal of Physiology* 275, G433-G448.
- Chen J.J., Zhishan L., Pan H., Murphy D.L., Tamir H., Koepsell H., Gershon M.D. (2001). Maintenance of serotonin in the intestinal mucosa and ganglia of mice that lack the High-Affinity Serotonin Transporter: Abnormal intestinal motility and the expression of cation transporters. *The Journal of Neuroscience* 21, 6348-6361.
- Costa M., Furness J.B., Cuello A.C., Verhofstadt A.A.J., Steinbusch H.D.J., Elde R.P. (1982). Neurons with 5-hydroxytryptamine-like immunoreactivity in the enteric nervous system: their visualization and reactions to drug treatment. *Neuroscience* 7, 351-363.
- Cristina M.L., Lehy T., Zeitoun P., Dufougeray F. (1978). Fine structural classification and comparative distribution of endocrine cells in normal human large intestine. *Gastroenterology* 75, 20-28.
- Cussato J., Jodal M., Tuttle R., Lundgren O. (1982). 5-hydroxytryptamine and cholera secretion. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 17, 695-703.
- De Ponti F., Tonini M. (2001). Irritable Bowel Syndrome. New agents targeting Serotonin Receptor Subtypes. *Drugs* 61, 317-332.
- de Ridder W.J., Schuurkes J.A. (1993). Cisapride and 5-hydroxytryptamine enhance motility in the canine antrum via separate pathways, not involving 5-hydroxytryptamine 1, 2, 3, 4 receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 264, 79-88.
- de Wit R., van Alphen M.M. (2003). New developments in the treatment of nausea and vomiting caused by chemotherapy. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde* 147, 690-694.
- Elliott J., Berhane Y., Bailey S.R. (2003). Effects of monoamines formed in the cecum of horses on equine digital blood vessels and platelets. *American Journal of Veterinary Research* 64, 1124-1131.
- Erspramer V. (1966). Occurrence of indolealkylamines in nature. In: Erspramer V. (editor). *Handbook of Experimental Pharmacology 5-Hydroxytryptamine and Related Indolealkylamines*, New York, Springer-Verlag, p. 132-181.

- Farfel Z., Bourne H.R., Iiri T. (1999). The expanding spectrum of G protein diseases. *New England Journal of Medicine* 340, 1012-1020.
- Finley M.R., Li Y., Hua F., Lillich J., Mitchell K.E., Ganta S., Gilmour R.F. Jr, Freeman L.C. (2002). Expression and coassociation of ERG1, KCNQ1, and KCNE1 potassium channel proteins in horse heart. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 283, H126-138.
- Fiorica-Howells E., Maroteaux L., Gershon M.D. (2000). Serotonin and the 5-HT(2B) receptor in the development of enteric neurons. *Journal of Neuroscience* 20, 294-305.
- Forster E.A., Cliffe I.A., Bill D.J., Dover G.M., Jones D., Reilly Y. (1995). A pharmacological profile of the selective silent 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY-100635. *European Journal of Pharmacology* 281, 81-88.
- Fujimiya M., Okumiya K., Yamane T., Maeda T. (1997a). Distribution of serotonin-immunoreactive nerve cells and fibers in the rat gastrointestinal tract. *Histochemistry and Cell Biology* 107, 105-114.
- Fujimiya M., Okumiya K., Kuwahara A. (1997b). Immunoelectron microscopic study of the luminal release of serotonin from rat enterochromaffin cells induced by high intraluminal pressure. *Histochemistry and Cell Biology* 108, 105-113.
- Fujimiya M., Yamamoto H., Kuwahara A. (1998). Effect of VIP and PACAP on basal release of serotonin from isolated vascularly and lumenally perfused rat duodenum. *American Journal of Physiology* 275, G731-G739.
- Fujita T., Kanno T., Kobayashi S. (1988). The enteroendocrine cell. In: Fujita T. (editor). *The paraneuron*. Springer Verlag, Tokyo, p. 14-28.
- Fukumoto S., Tatewaki M., Yamada T., Fujimiya M., Mantyh C., Voss M., Eubanks S., Harris M., Pappas T.N., Takahashi T. (2003). Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 284, R1269-76.
- Gaddum J.H., Picarelli Z.P. (1997). Two kinds of tryptamine receptor. *British Journal of Pharmacology* 120 (4 Suppl):134-139.
- Gershon M.D., Erde S.M. (1981). The nervous system of the gut. *Gastroenterology* 80, 1571-1594.
- Gershon M.D., Wage P.R., Kirchgessner A.L., Tamir H. (1990). 5-HT receptor subtypes outside the central nervous system. Roles in the physiology of the gut. *Neuropsychopharmacology* 3, 385-395.
- Goldhill J., Porquet M.F., Angel I. (1997). Post-synaptic 5-HT₄ receptor modulation of tachykinergic excitation of rat oesophageal tunica muscularis mucosae. *European Journal of Pharmacology* 4, 229-233.
- Holmsen H. (1985). Platelet activation and serotonin. In: Van Houtte P.M. (editor). *Serotonin and the cardiovascular system*. New York, Raven Press: p. 75-86.
- Houghton L.A., Foster J.M., Whorwell P.J. (2000). Alosetron, a 5-HT₃ receptor antagonist, delays colonic transit in patients with irritable bowel syndrome and healthy volunteers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 14, 775-782.
- Hoyer D., Clarke D.E., Fozard J.R., Hartig P.R., Martin G.R., Mylecharane E.J., Saxena P.R., Humphrey P.P.A. (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacological Reviews* 46, 157-203.
- Hoyer D., Martin G. (1997). 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology* 36, 419-28.
- Jandu K.S., Barrett V., Brockwell M., Cambridge D., Farrant D.R., Foster C., Giles H., Glen R.C., Hill A.P., Hobbs H., Honey A., Martin G.R., Salmon J., Smith D., Woollard P., Selwood D.L. (2001). Discovery of 4-[3-(trans-3-dimethylaminocyclobutyl)-1H-indol-5-ylmethyl]-(4S)-oxazolidin-2-one (4991W93), a 5HT(1B/1D) receptor partial agonist and a potent inhibitor of electrically induced plasma extravasation. *Journal of Medical Chemistry* 44, 681-693.
- Janssen P., Prins N.H., Moreaux B., Meulemans A.L., Lefebvre R.A. (2003). In vivo characterization of 5-HT_{1A} receptor-mediated gastric relaxation in conscious dogs. *British Journal of Pharmacology* 140, 913-20.
- Doe-Young K., Camilleri M. (2000). Serotonin: A mediator of the Brain-Gut connection. *Gut* 95, 2698-2709.
- King J.N., Gerring E.L. (1991). The action of low dose endotoxin on equine bowel motility. *Equine Veterinary Journal* 23, 11.
- Krause W.J., Yamada J., Cutts J.M. (1985). Quantitative distribution of enteroendocrine cells in the gastrointestinal tract of the adult opossum, *Didelphis virginiana*. *Journal of Anatomy* 140, 591-605.
- Kojima S. (1999). KW-5092, a novel gastrokinetic agent, facilitates luminal serotonin release from the guinea-pig colon. *European Journal of Pharmacology* 374, 113-115.
- Kraneveld A.D. (1994). Neuroimmune regulation of macrovascular permeability. Central role of the mast cell. PhD Thesis, Faculty of Pharmacy, Utrecht University, The Netherlands.
- Lalley P.M., Bischoff A.M., Richter D.W. (1994). 5-HT_{1A} receptor-mediated modulation of medullary expiratory neurones in the cat. *Journal of Physiology* 476, 117-30.
- Lillich J.D., Rakestraw P.C., Roussel A.J., Finley M.R., Ganta S., Freeman L.C. (2003). Expression of the ether-a-go-go (ERG) potassium channel in smooth muscle of the equine gastrointestinal tract and influence on activity of jejunal smooth muscle. *American Journal of Veterinary Research* 64, 267-272.
- Lördal M., Hellström P.M. (1999). Serotonin stimulates migrating myoelectric complex via 5-HT₃-receptors dependent on cholinergic pathways in rat small intestine. *Neurogastroenterology and Motility* 11, 1-10.
- Matsuda H., Li Y., Yoshikawa M. (2000). Possible involvement of 5-HT and 5-HT₂ receptors in acceleration of gastrointestinal transit by escin Ib in mice. *Life Science* 66, 2233-2238.
- Menzies-Gow N.J., Bailey S.R., Katz L.M., Marr C.M., Elliott J. (2004). Endotoxin-induced digital vasoconstriction.

- tion in horses: associated changes in plasma concentrations of vasoconstrictor mediators. *Equine Veterinary Journal* 36, 273-278.
- Minami M., Endo T., Hirafuji M. (2003). Pharmacological aspects of anticancer drug-induced emesis with emphasis on serotonin release and vagal nerve activity. *Pharmacology and Therapeutics* 99, 149-165.
- Mohammad S., Zhou Z., Gong Q., January C.T. (1997). Blockage of the HERG human cardiac K⁺ channel by the gastrointestinal prokinetic agent cisapride. *American Journal of Physiology* 273, H2534-8.
- Morris DD. (1991). Endotoxemia in horses-A review of cellular and humoral mediators involved in ITS pathogenesis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 5, 167-181.
- Mott D.D., Erreger K., Banke T.G., Traynelis S.F. (2001). Open probability of homomeric murine 5-HT_{3A} serotonin receptors depends on subunit occupancy. *Journal of Physiology* 535, 427-443.
- Muller-Oerlinghausen B., Roggenbach J., Franke L. (2004). Serotonergic platelet markers of suicidal behavior-do they really exist? *Journal of Affective Disorders* 79, 13-24.
- Naesh O., Hindberg I., Bruun A.B. (2001). Decreased reuptake of serotonin in human platelets after surgery. *Clinical Physiology* 21, 39-43.
- Nakamura N., Hamada N., Murata R., Kobayashi A., Ishizaki N., Taira A., Sakata R. (2001). Contribution of serotonin to liver injury following canine small-intestinal ischemia and reperfusion. *Journal of Surgical Research* 99, 17-24.
- Neumaier J.F., Sexton T.J., Yracheta J., Diaz A.M., Brownfield M. (2001). Localization of 5-HT₇ receptors in rat brain by immunocytochemistry, in situ hybridization, and agonist stimulated cFos expression. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 21, 63-73.
- Nieto J.E., Snyder J.R., Kollias-Baker C., Stanley S. (2000). In vitro effects of 5-hydroxytryptamine and cisapride on the circular smooth muscle of the jejunum of horses. *American Journal of Veterinary Research* 61, 1561-1565.
- Peranzi G., Lehy T. (1984). Endocrine cell population in the colon and rectum of cat, dog and monkey: fine structure, immunocytochemistry and distribution. *Anatomical Record* 210, 87-100.
- Pineiro-Carrero V.M., Clench M.H., Davis R.H., Andres J.M., Franzini D.A., Mathias J.R. (1991). Intestinal motility changes in rats after enteric serotonergic neuron destruction. *American Journal of Physiology* 260, G232-G239.
- Plassat J.L., Amlaiky N. (1993). Molecular cloning of a mammalian serotonin receptor that activates adenylate cyclase. *Molecular Pharmacology* 44, 229-236.
- Prasad C.N., Roy S.K., Deenath P.K., Sanyal A.K. (1977). Importance of plasma serotonin in intestinal obstruction. *Indian Journal of Pharmacology* 9, 11-16.
- Prins N.H., Briejer M.R., Schuurkes J.A.J. (1997). Characterisation of the contraction to 5-HT in the canine colon longitudinal muscle. *British Journal of Pharmacology* 120, 714-720.
- Prins N.H., Akkermans L.M., Lefebvre R.A., Schuurkes J.A.J. (2000a). 5-HT(4) receptors on cholinergic nerves involved in contractility of canine and human large intestine longitudinal muscle. *British Journal of Pharmacology* 131, 927-932.
- Prins N.H., Shankley N.P., Welsh N.J., Briejer M.R., Lefebvre R.A., Akkermans L.M., Schuurkes J.A.J. (2000b). An improved in vitro bioassay for the study of 5-HT(4) receptors in the human isolated large intestinal circular muscle. *British Journal of Pharmacology* 129, 1601-1608.
- Prins N.H., Akkermans L.M., Lefebvre R.A., Schuurkes J.A.J. (2001). Characterization of the receptors involved in the 5-HT-induced excitation of canine antral longitudinal muscle. *British Journal of Pharmacology* 134, 1351-1359.
- Rapport M.M., Green A.A., Page I.H. (1947). Purification of the substance which is responsible for vasoconstrictor activity of serum. *Federal Proceedings* 6, 184.
- Rizzotti M., Domeneghini C., Castaldo L. (1979). The endocrine cells of the rectum of adult ox. *Basic and Applied Histochemistry* 23, 235-240.
- Rouzade M.L., Fioramonti J., Bueno L. (1998). Decrease in gastric sensitivity to distension by 5-HT_{1A} receptor agonists in rats. *Digestive Diseases and Science* 43, 2048-2054.
- Sarna S.K., Briejer M.R., Schuurkes J.A. (2000). 5-HT₃/5-HT₄ receptors in motility disorders. In: Gaginella TS, Guglietta A. (editors). *Drug Development: Molecular Targets for GI diseases*, Humana Press, Totowa (NJ), p. 177-203.
- Sjolund K., Sanden G., Hakanson R., Sundler F. (1983). Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology* 85, 1120-1130.
- Snyder J.R. (1989). The pathophysiology of intestinal damage: effects of luminal distention and ischemia. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 5, 247-270.
- Song C.W., Lee K.Y., Kim C.D., Chang T.M., Chey W.Y. (1997). Effect of Cisapride and Renzapride on Gastrointestinal Motility and Plasma Motilin Concentration in Dogs. *The Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics* 281, 1312-1316.
- Spiller R. (2002). Serotonergic modulating drugs for functional gastrointestinal diseases. *British Journal of Clinical Pharmacology* 54, 11-20.
- Tack J., Coulie B., Wilmer A., Peeters T., Janssens J. (1998). Actions of the 5-hydroxytryptamine 1 receptor agonist sumatriptan on interdigestive gastrointestinal motility in man. *Gut* 42, 36-41.
- Tack J., Coulie B., Wilmer A., Andrioli A., Janssens J. (2000). Influence of sumatriptan on gastric fundus tone and on the perception of gastric distention in man. *Gut* 46, 468-473.
- Tan M. (2003). Granisetron: new insights into its use for the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 4, 1563-1571.
- Taniyama K., Nakayama S., Takeda K., Matsuyama S., Shirakawa J., Sano I., Tanaka C. (1991). Cisapride sti-

- mulates motility of the intestine via the 5-hydroxytryptamine receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 258, 1098-1104.
- Teramoto Y., Urano T., Nagai N., Takada Y., Ikeda K., Takada A. (1998). Plasma levels of 5-HT and 5-HIAA increased after intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Japanese Journal of Physiology* 48, 333-339.
- Thompson J.H. (1971). Serotonin and the alimentary tract. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 2, 687-781.
- Tonini M., Galligan J.J., North R.A. (1989). Effects of cisapride on cholinergic neurotransmission and propulsive motility in the guinea pig ileum. *Gastroenterology* 96, 1257-64.
- Tuladhar B.R., Ge L., Naylor R.J. (2003). 5-HT₇ receptors mediate the inhibitory effect of 5-HT on peristalsis in the isolated guinea-pig ileum. *British Journal of Pharmacology* 138, 1210-1214.
- Turnage R.H., Guice K.S., Oldham K.T. (1994). Endotoxemia and remote organ injury following intestinal reperfusion. *Journal of Surgical Research* 56, 571-578.
- Unwin N. (2000). The Croonian Lecture 2000. Nicotinic acetylcholine receptor and the structural basis of fast synaptic transmission. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* 355, 1813-29.
- Weiss R., Abel D., Scholtysik G., Straub R., Mevissen M. (2002). 5-Hydroxytryptamine mediated contractions in isolated preparations of equine ileum and pelvic flexure: pharmacological characterization of a new 5-HT₄ agonist. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25, 49-58.
- Yamada T., Inui A., Hayashi N., Fujimura M., Fujimiya M. (2003). Serotonin stimulates endotoxin translocation via 5-HT₃ receptors in the rat ileum. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 284, G782-8.