

ผลของ endothelin ต่อ renal hemodynamics

โชติ วีระวงษ์, วท.ม. (สรีรวิทยา)*

รุ่งตะวัน สุภาพผล, ปร.ด.*

บทคัดย่อ Endothelin (ET) เป็นสารที่เพิ่งค้นพบใหม่ หลังจากจากเซลล์บุผิวหลอดเลือด (endothelium) และเซลล์อื่น ๆ อีกหลายชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโน 21 ตัว จำแนกออกได้อย่างน้อย 3 ชนิด คือ ET_1 , ET_2 , ET_3 ตามลักษณะของ isopeptide ที่อยู่ภายในโมเลกุล ตัวรับของ ET มี 2 ชนิด คือ ET_A และ ET_B การที่ ET จับกับตัวรับจะกระตุ้นการทำงานของ G protein ไปมีผลเพิ่มการเคลื่อนย้ายแคลเซียมไอออนและกระตุ้น protein kinase C กลไกเหล่านี้จะทำให้หลอดเลือดหดตัว โดยจะลดเส้นผ่าศูนย์กลางของ afferent arteriole ได้มากกว่า efferent arteriole อย่างไรก็ตาม ET ยังมีฤทธิ์ทำให้ลด RBF และ GFR อีกทั้งเพิ่ม pre - และ postglomerular resistance

Abstract Effects of endothelin on renal hemodynamics

Chote Werawong, M. Sc. (Physiology) *

Roongtawan Supabphol, Ph D*

Endothelin (ET) is discovered recently that is released from endothelial cell and variety cells. It is consisted 21 amino acid peptide. At least three isopeptides have been characterized ET_1 , ET_2 and ET_3 . Two ET receptors, subtype ET_A and ET_B have been identified and both seem to utilize G protein - coupled activation mechanisms to enhance Ca^{2+} mobilization and activation of protein kinase C. The mechanisms induce renal vasoconstriction that greater decreases in afferent arteriolar diameter than in efferent arteriolar diameter. However, ET decreases in both GFR and RBF and increases in both pre - and postglomerular resistance.

(MJS 1997 ; 1 : 12 - 18)

key word : endothelial - derived vasoactive factors, endothelin

* ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

Department of Physiology, faculty of Medicine, Srinakharinwirot University.

endothelial – derived vasoactive factors

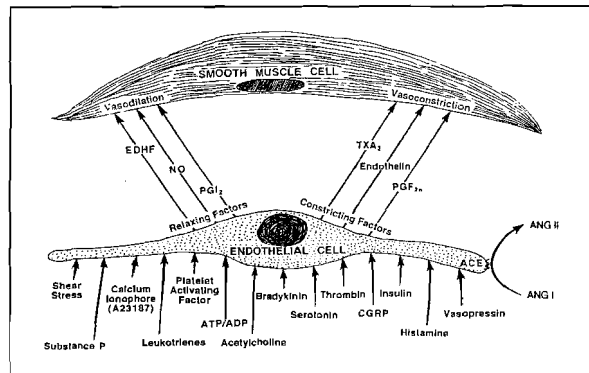
endothelial – derived vasoactive factors เป็นกลุ่มสารที่หลั่งมาจากเซลล์บุผิวของหลอดเลือด (endothelium) ไปมีผลต่อการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดอย่างรุนแรง¹ ประกอบด้วยสารหลายชนิด ได้แก่ nitric oxide (NO), endothelin (ET), endothelial – derived hyperpolarizing factor (EDHF) และ endothelial – derived contracting factor ผลจากการค้นคว้าวิจัยในเกือบสองทศวรรษที่ผ่านมาทำให้ทราบถึงฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้เพิ่มขึ้น เช่น NO และ ET มีผลควบคุมหน้าที่การทำงานของไตในระยะสั้นและระยะยาว² EDHF มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัวโดยทำให้เกิดภาวะ hyperpolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และ endothelial – derived contracting factor ทำให้หลอดเลือดหดตัวเป็นต้น³

ลักษณะทางชีวภาพของ endothelin

สารสำคัญในกลุ่มนี้ที่ได้รับความสนใจเป็นพิเศษคือ ET มีโครงสร้างเป็นสาย polypeptide ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 21 ตัว⁴ จำแนกออกเป็น 3 ชนิดตามลักษณะของ isopeptide ที่อยู่ภายในโมเลกุล คือ ET₁, ET₂ และ ET₃ การสังเคราะห์ ET อยู่ในรูปของ prepropeptide precursor ขนาดใหญ่ที่เรียกว่า proendothelins ก่อน ซึ่งมีกรดอะมิโน 38 – 39 ตัว แล้วถูกเอ็นไซม์ endopeptidase ตัดสาย peptide บางส่วนออกจนเหลือกรดอะมิโนเพียง 21 ตัว⁵

แต่เดิมการสกัดแยก ET ทำได้แต่เฉพาะในการเพาะเลี้ยง (cell culture) เซลล์บุผิวหลอดเลือดเท่านั้น⁶ จึงเป็นที่มาของชื่อ endothelin แต่ในปัจจุบันสามารถพบ ET ได้ในเซลล์หลายชนิด⁷ ดังเช่นที่พบ ET₃ ในเซลล์ชนิดอื่น ๆ แต่ไม่พบในกระแสเลือด สำหรับในเซลล์บุผิวหลอดเลือดพบเฉพาะ ET₁ เท่านั้น ไม่พบว่าการสังเคราะห์ ET₁ แล้วเก็บสะสมไว้ในเซลล์ แต่จะหลั่งภายหลังจากการกระตุ้นเซลล์บุผิวหลอดเลือดด้วยสิ่งเร้าหลายชนิด เช่น การกระตุ้นด้วย thrombin, bradykinin, ATP, platelet activating factor (PAF), transforming growth factor – β_1 รวมทั้งการกระตุ้นเชิงกลบางอย่าง ได้แก่ shear stress

เป็นต้น⁸ ดังแสดงในภาพ 1



ภาพ 1 ภาพแสดงการหลั่งสารต่าง ๆ จากการกระตุ้นเซลล์บุผิวหลอดเลือด และมีผลต่อเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด⁵⁰

ฤทธิ์ทางสรีรวิทยา

บทบาททางสรีรวิทยาที่เด่นมากของ ET คือ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในหลาย ๆ ระบบของร่างกายหดตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลอดเลือดฝอยที่ปอด ไต และ mesentery⁹ ทั้งนี้ ET₁ ทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่ที่ไตหดตัวได้มากกว่า ET₃¹⁰ กลไกการทำงานเชื่อว่าผ่านทางตัวรับ (receptor) ที่แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ET_A และ ET_B พบที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดและ mesangial cells โดยเฉพาะ ET_B ยังพบได้ที่เซลล์บุผิวหลอดเลือดของ vasa recta และ loop of Henle ในปริมาณที่พอ ๆ กัน^{8, 11} ผลจากการศึกษาด้วยวิธี radioligand ในส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อไตพบว่า อัตราส่วนของ ET_A ต่อ ET_B บริเวณ cortex ของไตในหนูทดลองพันธุ์ที่เกิดภาวะความดันโลหิตสูงเอง (spontaneously hypertensive rat) มีค่าสูงกว่าหนูทดลองพันธุ์ Wistar – Kyoto rat แสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงบทบาทหน้าที่ของ ET ในภาวะความดันโลหิตสูง¹²

ภาพรวมของฤทธิ์การหดตัวจาก ET ยังมีรายละเอียดปลีกย่อยและขัดแย้งอีกมากที่ยังไม่มีข้อสรุปแน่นอน เช่น การเปลี่ยนแปลง glomerular filtration rate (GFR) King และคณะพบว่าความต้านทานของ efferent arteriole เพิ่มขึ้นมากกว่า afferent arteriole และค่า glomerular ultrafiltration coefficient (kf) ลดลง โดย GFR คงเดิม เนื่องจาก glomerular pressure

เพิ่มขึ้น¹³ Badr และคณะ ทดลองฉีด ET ขนาด 10 พิโคโมลต่อนาที พบการเพิ่มความดันเลือดอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ความต้านทานของทั้ง afferent และ efferent arteriole เพิ่มขึ้น ค่า k_f ลดลง และ GFR ในไตทั้งสองข้างรวมทั้งหน่วยไตเดี่ยว (single nephron) ลดลง¹⁴ Denton และ Anderson รายงานไว้ว่า ET ขนาดต่ำ ๆ มีผลเพิ่มความต้านทานของหลอดเลือดในไต (renal vascular resistance, RVR) โดย GFR ไม่ลดลงและ glomerular pressure ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะทำให้ GFR และ renal blood flow (RBF) ลดลง รวมทั้ง glomerular pressure เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และความต้านทานของ pre- และ postglomerular เพิ่มขึ้นเท่า ๆ กัน⁹

Kon และคณะ¹⁵ พยายามหลีกเลี่ยงผลที่เกิดขึ้นต่อระบบอื่น ๆ เพื่อหลีกเลี่ยงกลไกซับซ้อนที่อาจเกิดขึ้นจากการปรับตัวของร่างกาย โดยการฉีด ET เข้าสู่แขนหลอดเลือดแดงโดยตรงพบว่าในขนาดต่ำ ๆ ทำให้ single nephron plasma flow ลดลงหนึ่งในสาม GFR และ glomerular pressure ลดลงเช่นกัน ความต้านทานที่ preglomerular และ efferent arteriole เพิ่มขึ้นจึงเชื่อว่ากลไกการยับยั้งของ arteriole ไวต่อ ET มากกว่า glomerular apparatus ฤทธิ์ดังกล่าวนี้ไม่เปลี่ยนแปลงด้วยสารยับยั้ง angiotensin II (ANG II) receptor

รายงานที่น่าสนใจจากนักวิจัยอีกกลุ่มหนึ่งพบว่า ET ทำให้ afferent arteriole หดตัวจนมีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า efferent arteriole คือ ทำให้หลอดเลือดบริเวณ afferent หดตัวมากกว่า efferent¹⁶⁻¹⁸ และจากการทดลองแยกหลอดเลือดไตจากหนู Munich Wistar มาศึกษาโดยทำ isolated infusion หลอดเลือด renal arteriole พบว่า ET_1 และ ET_2 ให้ผลโดยตรงเท่า ๆ กันต่อการหดตัวของ afferent และ efferent arteriole ขณะที่ ET_3 มีฤทธิ์น้อยกว่าในกระด้าย¹⁹⁻²¹

การศึกษาทางเภสัชวิทยา

การหดตัวของหลอดเลือดไตที่เกิดจาก ET ขนาดต่ำ ๆ สันนิษฐานว่าผ่านทางการกระตุ้น ET_A receptor เนื่องจากสามารถยับยั้งได้ด้วย BQ - 123 ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม selective ET_A receptor antago-

nist^{10, 22, 23} แต่การหดตัวของหลอดเลือดไตก็เกิดขึ้นได้จากการให้ ET_1 ขนาดสูง ๆ ร่วมกับ BQ - 123¹² แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของหลอดเลือดไตจากฤทธิ์ของ ET อาจไม่ผ่านตัวรับชนิด ET_A เพียงอย่างเดียว เนื่องการยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดแดงที่ไตจากฤทธิ์ของ ET_1 ด้วย BQ - 123 มีผลไม่มากนัก จึงอาจเป็นไปได้ว่าตัวรับของ ET บางส่วนไม่ไวต่อ BQ - 123²⁴ การทำงานของตัวรับทั้งสองชนิดคงจะเหลื่อมซ้อน (overlap) กันบ้าง ทั้งนี้เชื่อว่าตัวรับทั้งสองชนิดทำให้หลอดเลือดหดตัวโดย ET_A มีความสามารถในการจับ (affinity) กับ ET มากกว่า ET_B ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด

ดังกล่าวมาแล้วว่ามีการค้นพบตัวรับของ ET เป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของไต หลักฐานดังกล่าวทำให้นักวิจัยคาดหวังกว่าการทำงานของ ET น่าจะต้องเกี่ยวข้องกับไตอย่างแน่นอน การค้นคว้าวิจัยผลทางสรีรวิทยาต่อไตของ ET จึงมีมากกว่าต่อเนื้อเยื่ออื่น อย่างไรก็ตามบทบาททางสรีรวิทยาต่อการไหลเวียนเลือดบริเวณไตยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เนื่องจากการตอบสนองต่อการฉีด ET เกิดขึ้นอย่างสลับซับซ้อนและแปรผลค่อนข้างยาก เพราะการออกฤทธิ์ช้าและฤทธิ์คงอยู่นาน²⁵ ดังจะเห็นได้จากการให้ ET ขนาดต่ำ ๆ จะพบหลอดเลือดไตขยายตัวในระยะแรก แล้วสักระยะต่อมาจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นการหดตัวอย่างรุนแรง^{8,10,25 - 31} ผลจากการให้ ET ขนาด 1 - 10 นาโนกรัมต่อกิโกรัมต่อนาที ทำให้หลอดเลือดไตหดตัว โดย GFR ไม่เพิ่มขึ้น^{26,32,33} หากต่ำมาก ๆ ประมาณ 1 - 5 นาโนกรัมต่อกิโกรัมต่อนาที GFR และ RBF ลดลงเท่า ๆ กัน ค่า filtration fraction จึงคงเดิม^{30,34} นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยอีกหลายแห่งยืนยันตรงกันว่า ET ขนาดต่ำ ๆ ทำให้หลอดเลือดขยายตัว^{14,16,17,23,35,36} และขนาดสูง ๆ ประมาณ 25 - 50 พิโคโมลต่อกิโกรัมต่อนาที มีผลให้ GFR และ RBF ลดลงอย่างมาก^{14,16,17,22,23,26,35,36} และการให้ ET_1 แบบ chronic infusion มีผลลด GFR และ RBF พร้อมกับเพิ่มความดันเลือด³⁷ รายงานที่น่าสนใจอีกแห่งหนึ่งจาก Rabelink และคณะคือการทดลองฉีด ET_1 ในคนขนาด 3.2, 5.0, 6.2 และ 8.5 พิโคโมลในภาวะที่มี

พยาธิสภาพ ทำให้หลอดเลือดไตหดตัวเฉพาะที่ให้ขนาดสูงสุดเท่านั้น³⁸ จึงอาจกล่าวได้ว่าฤทธิ์ของ ET จะแปรตามขนาดที่ให้

สารหลายชนิดมีผลเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ ET ได้เช่น Ca^{2+} channel blocker, NO, cyclosporine, angiotensin II (ANG II) และสารในกลุ่ม prostaglandins เป็นต้น การตอบสนองของ afferent arteriole ต่อ ET จะถูกยับยั้งบางส่วนด้วย Ca^{2+} channel blocker แต่ไม่มีผลต่อการหดตัวของ efferent arteriole¹⁹ จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ ET ในหลอดเลือดและ hydronephrotic kidney พบว่าการหดตัวของหลอดเลือด afferent arteriole ลดลงเมื่อให้สารยับยั้ง Ca^{2+} channel^{16,17}

NO ก็สามารถเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ ET ได้เช่นกัน ตามที่ Ito และคณะได้รายงานว่ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของ afferent ลดลงตามความเข้มข้นของ ET ที่ให้ แต่ต่อมาพบว่า หากให้สารที่ยับยั้งการสร้าง NO (มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวดังภาพ 1) ก่อนให้ ET การตอบสนองจะเพิ่มขึ้นในขนาดความเข้มข้นของ ET ที่ 10^{-10} และ 10^{-11} M แต่ไม่พบที่ความเข้มข้น 10^{-9} M การศึกษาในสุนัขพบว่าการยับยั้งเอนไซม์ nitric oxide synthase ด้วย N^G -monomethyl-L-arginine (L-NMMA) สามารถยับยั้งผลที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวที่เกิดขึ้นในช่วงแรกจากฤทธิ์ของ ET₁ หรือ ET₃ ได้ และยังมีผลช่วยให้หลอดเลือดหดตัวมากขึ้นในภายหลังด้วย²⁷ ผลต่าง ๆ เหล่านี้พบได้ในการทดลองโดยใช้ไตที่ถูกตัดแยกออกมาแล้วให้สารในกลุ่มที่ยับยั้ง ET₃ receptor คือ BQ-788 หรือ N^G -monomethyl-L-arginine methyl ester (L-NAME) ซึ่งเป็น L-arginine analogues มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่ง NO และมีผลทำให้ RVR เพิ่มขึ้นจากการให้ ET₁³⁹ จากข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้ เชื่อได้ว่า NO ที่ถูกสร้างขึ้นอาจมีฤทธิ์ยับยั้งผลของ ET โดย ET กระตุ้นเซลล์บุผิวหลอดเลือดให้สร้าง NO²⁰

การศึกษาด้วยการตัด arteriole ของหนูออกมาศึกษา พบว่า ET ทำให้หลอดเลือดหดตัวได้ทั้ง afferent และ efferent arteriole โดย efferent จะหดตัวมากกว่าเล็กน้อย²¹ แต่ฤทธิ์ในการกระตุ้นการหดตัวของ afferent ที่เพิ่มมากขึ้นด้วย cyclosporine จะ

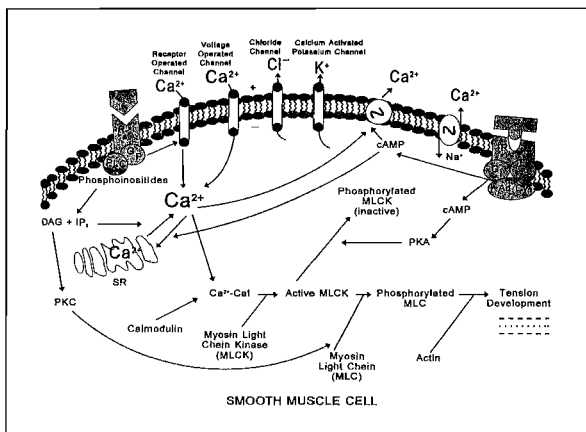
ถูกยับยั้งด้วยการให้ ET₁ receptor antagonist ดังนั้น อาจเป็นไปได้ว่าระดับ ET ที่สูงขึ้นจะช่วยทำให้ afferent หดตัวผ่านทางกลไกของ cyclosporine และเป็นที่น่าสังเกตว่าระยะเวลาที่ ET₁ ทำให้หลอดเลือดหดตัว นานกว่า ANG II และการยับยั้ง ANG II receptor หรือ การยับยั้งการทำงานของ angiotensin converting enzyme จะไม่มีผลเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากการให้ ET₁⁴⁰ ผลต่าง ๆ เหล่านี้แสดงให้เห็นว่า ผลของ ET ไม่ได้ผ่านทาง ANG II แม้บางครั้งอาจจะช่วยทำให้หลอดเลือดหดตัวเพิ่มมากขึ้นได้บ้างถ้าระดับของ ANG II สูงขึ้น

ในทางตรงข้ามการศึกษาฤทธิ์ของ ET ที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวยังเป็นเรื่องที่ซับซ้อน มีรายงานว่า ET₃ ทำให้หลอดเลือดคลายตัวและมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ เมื่อฉีดเข้าหลอดเลือดแดงไตในสุนัข การให้สารยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ด้วย ibuprofen ทำให้ลดการคลายตัวของหลอดเลือด แต่ ถ้าให้ L-NMMA ซึ่งเป็นสารยับยั้งการสร้าง NO ก่อนให้ ET₃ จะได้ผลตรงข้ามคือ จากหลอดเลือดขยายตัว เปลี่ยนเป็นหลอดเลือดหดตัว จึงอาจเป็นไปได้ว่า ET₃ กระตุ้นการสร้าง NO และ prostanoids ที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวในช่วงแรกและขัดขวางการหดตัวของหลอดเลือด^{27,35,41} ฤทธิ์การหดตัวของหลอดเลือดจากการให้ ET สามารถเพิ่มขึ้นด้วยการให้ calcitonin gene related peptide นั่นคือ ET ออกฤทธิ์ผ่านทาง การหลั่ง NO จากเซลล์บุผิวหลอดเลือด⁴²⁻⁴⁴ จึงเชื่อว่า endothelial-derived constricting factor และ NO ทำงานร่วมกันในการควบคุม tone ของความต้านทานของหลอดเลือด

อนึ่งการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ยังมี ผลลดการหดตัวของ afferent arteriole ที่เกิดจากการให้ ET อีกด้วย ดังนั้นจึงเชื่อได้ว่าผลของ cyclooxygenase จะทำให้มีการหลั่งสารเฉพาะที่บางอย่าง เช่น PGF_{2α} ที่ช่วยทำให้หลอดเลือดแดงของไตหดตัวค้างอยู่²⁵ อย่างไรก็ตามการศึกษาเปรียบเทียบการตอบสนองของไตด้วยการให้ ET และ thromboxane A₂ (TxA₂) analogue คือ U-46619 ใน isolated perfused rat kidney พบว่าการสร้าง eicosanoids ภายในไต แต่ไม่มีบทบาทสำคัญเท่าใดนักต่อฤทธิ์ของ ET ในไต⁴⁵

กลไกการออกฤทธิ์ระดับเซลล์

เมื่อ ET จับกับตัวรับจะกระตุ้น G - protein เพิ่มการเคลื่อนที่ของแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์มากกว่าปกติ⁴⁶ ไปมีผลเร่งการทำงานของ protein kinase C ทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบเกิดขึ้น¹¹ ดังแสดงในภาพ 2 การศึกษากลไกระดับเซลล์ของ ET ต่อหลอดเลือดโตโดยใช้ mesangial cells ที่นำมาเพาะเลี้ยงเป็นแม่แบบ (model) เซลล์ดังกล่าวมีการตอบสนองต่อ ET เช่นเดียวกับเซลล์หลอดเลือดแดงของไต คือมีการหดตัวและเพิ่มปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณแคลเซียมไอออนภายนอกเซลล์^{14,47-49}



ภาพ 2 แสดงกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด⁵⁰

- DAG = 1,2 - diacylglycerol
 IP_3 = inositol 1,4,5 - triphosphate
 SR = sarcoplasmic reticulum
 PLC = phospholipase C
 cAMP = adenosine 3', 5' cyclic monophosphate
 PKA = protein kinase A
 Ad Cy = adenylate cyclase
 Cal = calmodulin

อย่างไรก็ตามการหดตัวของ efferent arteriole ในหลอดเลือดและ mesangial cells ไม่ขึ้นอยู่กับการเคลื่อนย้ายแคลเซียมไอออนภายในเซลล์⁵⁰ แต่มีการกระตุ้น inositol-1,4,5-triphosphate (IP_3) ทำให้มีการเคลื่อนย้ายแคลเซียมไอออนภายในเซลล์⁵⁰

ผลจากการศึกษาใน afferent arteriole และ

เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดที่ตัดมาจาก interlobar และ arcuate arteries ทำให้ทราบว่า ET ออกฤทธิ์ผ่าน IP_3 ไปกระตุ้นให้มีการเพิ่มแคลเซียมไอออนในเซลล์และกระตุ้น Cl^- channel ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดภาวะ depolarization เป็นผลให้แคลเซียมไอออนเคลื่อนเข้าสู่เซลล์และเกิดการหดตัวตามมาในที่สุด^{48,51,52} Takenaka และคณะ ได้ทำการทดลองเพื่อยืนยันสมมุติฐานนี้อีกครั้งด้วยการให้สารยับยั้ง Cl^- channel ด้วย IAA - 94 พบว่าการหดตัวของ afferent arteriole ใน hydronephrotic kidney ลดลง และทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์ที่สูงอยู่ลดน้อยลง ผลที่ได้สนับสนุนความเชื่อที่ว่า ET มีผลกระตุ้น Cl^- channel ทำให้เกิด depolarization ของเยื่อหุ้มเซลล์ และแคลเซียมไอออนเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ทาง voltage dependent channel⁵² ยิ่งไปกว่านั้นหากให้สารที่ยับยั้งการทำงานของ protein kinase C (PKC) ร่วมกับสารในกลุ่ม Ca^{2+} channel blocker ขนาดต่ำ ๆ ทำให้ได้ผลการทดลองกลับกัน⁵³ จึงมีความเป็นไปได้สูงกว่า ET กระตุ้นแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์ร่วมกับกระตุ้นการทำงานของ PKC อีกทั้งยังมีกลไกที่เกี่ยวข้องกับการ hydrolysis ของ phosphatidylcholine (PC) เป็นผลให้มีการเพิ่มของ 1,2 - diacylglycerol (DAG) และเพิ่มการหดตัวของเซลล์หลอดเลือด⁴⁷

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาในรายละเอียดของ endothelin นั้นว่ายังไม่กระจ่างชัดเท่าที่ควร แต่ก็ได้รับความสนใจและมีการศึกษากันมากขึ้นในระยะหลัง ๆ ทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์ อย่างไรก็ตามสามารถสรุปได้ค่อนข้างแน่นอนในระดับหนึ่งว่า มีฤทธิ์ต่อการหดตัวของหลอดเลือดอย่างมีประสิทธิภาพ หากการค้นคว้าวิจัยดำเนินไปจนสามารถทราบถึงฤทธิ์ทางสรีรวิทยา กลไกการออกฤทธิ์ระดับเซลล์ รวมทั้งการศึกษาทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยา เหล่านี้จะช่วยให้การนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้อย่างถูกต้อง ประกอบกับ endothelin เป็นสารที่มีอยู่ในร่างกาย (endogenous substance) ดังนั้นการให้ในขนาดที่เหมาะสมจะช่วยแก้ปัญหาในเรื่องภูมิแพ้หรือ anaphylactic shock ที่พบในสารโปรตีนทั่วไป อีกทั้งขั้นตอนการกำจัดออก

อาจไม่ก่อพิษต่อตับและไตมากดังเช่นสารภายนอก
 ร่างกาย (exogenous substance) อื่น ๆ

Reference

- Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium – derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989 ; 3 : 2007 – 2018.
- King AJ, Brenner BM. Endothelium – derived vasoactive factors and the renal vasculature. *Am J Physiol* 1991 ; 260 : R653–R662.
- Vanhoutte PM, Shimokawa H. Endothelium – derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation* 1989;80:1 – 9.
- Matsaki T. The discovery, the present state, and the future prospects of endothelin. *J Cardiol Pharmacol* 1989;13, Suppl 5:S1–S4.
- Rubanyi GM, Botelho LHP. Endothelins. *FASEB J* 1991;5:2713 –2720.
- Yanagisawa M, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature Lond* 1988;332: 411–415.
- Rubanyi GM, Polkoff MA. Endothelins : molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 1994;46:325–415.
- Kohan DE. Endothelins in the kidney : physiology and pathophysiology. *Am J Kidney Dis* 1993;22:493–510.
- Denton KM, Anderson WP. Vascular actions of endothelin in the rabbit kidney. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1990;17:861–872.
- Clavell AL, Stingo AJ, Margulies KB, Burnedt RR, Burnett JC. Role of endothelin receptor subtypes in the in vivo regulation of renal function. *Am J Physiol* 1995;268:F455 – F460.
- Pollock DM, Keith TL, Highsmith RF. Endothelin receptors and calcium signaling. *FASEB J* 1995;9:1196–1204.
- Gellai M, Bewolf R, Pullen M, Nambi P. Distribution and functional role of renal ET receptor subtypes in normotensive and hypertensive rats. *Kidney Int* 1994;46:1287–1294.
- King A, Brenner BM, Anderson S. Endothelin : a potent renal and systemic vasoconstrictor peptide. *Am J Physiol* 1989;256: F1051–F1058.
- Badr KF, Murray JJ, Brever MD, Takahashi K, Inagami T, Harris RC. Mesangial cell, glomerular and renal vascular responses to endothelin in the rat kidney. *J Clin Invest* 1989;83:336–342.
- Kon V, Yoshioka T, Fogo A, Ichikawa I. Glomerular actions of endothelin in vivo. *J Clin Invest* 1989;83:1762–1767.
- Fretschner M, Endlich K, Gulbins E, Lang RE, Schlottmann K, Steinhausen M. Effects of endothelin on the renal microcirculation of the split hydronephrotic rat kidney. *Renal Physiol Biochem* 1991;14:112–127.
- Loutzenhiser R, Epstein M, Hayashi K, Horton C. Direct visualization of effects of endothelin on the renal microvasculature. *Am J Physiol* 1990;258:F61–F68.
- Saito M, Homma S, Yamatsu I, Sato M, Ohshima N. Visualization of renal microcirculation in isolated Munich – Wistar rat kidneys : effects of endothelin – 1 on renal hemodynamic activity. *Jpn J Pharmacol* 1994;66:221–229.
- Edwards RM, Trizna W, Ohlstein EH. Renal microvascular effects of endothelin. *Am J Physiol* 1990;259:F217–F221.
- Ito S, Juncos LA, Nushiro N, Johnson CS, Carretero OA. Endothelium – derived relaxing factor modulates endothelin action in afferent arterioles. *Hypertension Dallas* 1991;17:1052–1056.
- Lanese DM, Yuan BH, McMurtry IF, Conger JD. Comparative sensitivities of isolated rat renal arterioles to endothelin. *Am J Physiol* 1992;263:F894–F899.
- Pollock DM, Opgenorth TJ. Evidence for endothelin – induced renal vasoconstriction independent of ETA receptor activation. *Am J Physiol* 1993;264:R222–R226.
- Brooks DP, Depalma PD, Pullen M, Nambi P. Characterization of canine renal endothelin receptor subtype and their function. *J Exp Ther Pharmacol* 1994;268:1091–1097.
- Clark KL, Pierre L. Characterization of endothelin receptors in rat renal artery in vitro. *Br j Pharmacol* 1995;114:785–790.
- Munger KA, Takahashi K, Awazu M, Frazer M, Falk SA, Conger JD, Badr KF. Maintenance of endothelin induced renal arteriolar constriction in rats is cyclooxygenase dependent. *AM J Physiol* 1993;264:F637–F644.
- Banks RO. Effects of endothelin on renal function in dogs and rats. *Am J physiol* 1990;258:F775–F780.
- Chou SY, Porush JG. Renal actions of endothelin-1 and endothelin – 3 : interactions with the prostaglandin system and nitric oxide. *Am J Kidney Dis* 1995;26:116–123.
- Harris PJ, Zhuo J, Mendelsohn FAO, Skinner SL. Haemodynamic and renal tubular effects of low doses of endothelin in anesthetized rats. *J Physiol Lond* 1991;433:25–39.
- Kotoh T, Chang H, Uchida S, Okuda T, Kurokawa K. Direct effects of endothelin in the rat kidney. *Am J Physiol* 1990;258:F397–F402.
- Stacy DL, Scott JW, Granger JP. Control of renal function during intrarenal infusion of endothelin. *Am J Physiol* 1990;258: F1232–F1236.
- Tsuchiya K, et al. Effects of endothelin on renal regional blood flow in dogs. *Eur J Pharmacol* 1989;166:541–543.
- Goetz KL, Want BC, Madwed JB, Zhu JL, Leadley RJ JR. Cardiovascular, renal and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs. *Am J Physiol* 1988;255: R1064–R1068.
- Takabatake T, Ise T, Ohta K, Kobayashi KI. Effects of endothelin on renal hemodynamics and tubuloglomerular feedback. *Am J Physiol* 1992;263:F103–F108.
- Matsumura Y, Hisaki K, Ohyama T, Hayashi K, Morimoto S. Effects of endothelin on renal function and renin secretion in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol* 1989;166:557–580.

35. Hirata Y, Matsuoka H, Kimura K, Sugimoto T, Hayakawa H, Suzuki E. Role of endothelium - derived relaxing factor in endothelin - induced renal vasoconstriction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17 Suppl 7:S169-S171.
36. Lin H, Sangmal M, Smith MJ JR and Young DB. Effect of endothelin - 1 on glomerular hydraulic pressure and renin release in dogs. *Hypertension Dallas* 1993;21:845-851.
37. Wilkins FC, et al. Systemic hemodynamic and renal function during long-term pathophysiological increases in circulating endothelin. *Am J Physiol* 1995;268:R375-R381.
38. Rabelling TJ, Kaasjager KAH, Boer P, Stroes EG, Braam B. Humans : implications for physiology and pathophysiology. *Kidney Int* 1994;46:376-381.
39. Dorleans - Juste P, Claing A, Telemaque S, Maurice MC, Yano M, Gratton JP. Block of endothelin-1-induced release of thromboxane A₂ from the guinea pig lung and nitric oxide from the rabbit kidney by a selective ETB receptor antagonist, BQ - 788. *Br J Pharmacol* 1994;113:1258-1262.
40. Lanese DM, Conger JD. Effects of endothelin receptor antagonist on cyclosporine - induced vasoconstriction in isolated rat renal arterioles. *J Clin Invest* 1993;91:2144-2149.
41. Yamashita Y, Yukimura T, Miura K, Okumura M, Yamamoto K. Effects of endothelin - 3 on renal functions. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;259:1256-1260.
42. Amuchastegui CS, Remuzzi G, Perico N. Calcitonin gene - related peptide reduces renal vascular resistance and modulates ET - 1 induced vasoconstriction. *Am J Physiol* 1994;267:F839-F844.
43. Tabuchi Y, Shi SJ, Mikami H, Ogihara T. Endothelin modulates L-Ng - nitroarginine - induced enhancement of vasoconstriction evoked by norepinephrine. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7:S203-S205.
44. Yamashita Y, Yukimura T, Miura K, Okumura M, Yamanaka S, Yamamoto K. Effects of Ng - nitro - L - arginine on renal hemodynamic responses to endothelin - 3 in anesthetized dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7:S332-S334.
45. Ferrario RG, Foulkes R, Salvati P, Patrono C. Hemodynamic and tubular effects of endothelin and thromboxane in the isolated perfused rat kidney. *Eur J Pharmacol* 1989;171:127-134.
46. Clozel M, Fischli W, Guilly C. Specific binding of endothelin on human vascular smooth muscle cells in culture. *J Clin Invest* 1989;83:1758-1761.
47. Baldi E, Musial A, Kester M. Endothelin stimulates phosphatidylcholine hydrolysis through both PLC and PLD pathways in mesangial cells. *Am J Physiol* 1994;266:F957-F965.
48. Simonson MS. Endothelins : multifunctional renal peptides. *Physiol Rev* 1993;73:375-487.
49. Gordienko DV, Clausen C, Goligorsky MS. Ionic currents and endothelin signaling in smooth muscle cells from rat renal resistance arteries. *Am J Physiol* 1994;266:F325-F341.
50. Navar GL, Inscho WE, Madid SAD, Imig DJ, Harrison - Bernard ML, Mitchell DM. Paracrine regulation of the renal microcirculation. *Physiol Rev* 1996;76:425-536.
51. Iijima K, Lin L, Nasjletti A, Goligorsky MS. Intracellular ramification of endothelin signal. *Am J Physiol* 1991; 260: C982-C992.
52. Takenaka T, Epstein M, Forster H, Landry WD, Iijima K, Goligorsky SM. Attenuation of endothelin effects by a chloride channel inhibitor, indanyloxyacetic acid. *Am J Physiol* 1992;262:F799-F806.
53. Takenaka T, Forster H, Epstein M. Protein Kinase C and calcium channel activation as determinants of renal vasoconstriction by angiotensin II and endothelin. *Circ Res* 1993;73:743-750.