

## ENDOTELINAS: FISILOGIA Y FISIOPATOLOGIA. POSIBLE ROL EN LA PREECLAMPSIA

Dr. Francisco Delgado del Hierro<sup>1</sup>

### Resumen

*En la presente revisión se aborda el rol fisiológico y fisiopatológico de las Endotelinas (ET), péptidos producidos por el endotelio vascular, que poseen el efecto vasoconstrictor más potente conocido en la actualidad y acción mitógena en algunas líneas celulares, la amplia distribución de receptores para ET en el organismo (corazón, aorta, riñón, cerebro, músculo liso, placenta, cordón umbilical) sugiere que las ET juegan un importante rol fisiológico y fisiopatológico. Se detalla la posible acción en la regulación del tono vascular y las posibilidades terapéuticas de sustancias inductoras o antagonistas de las ET. Se describe la posible acción en la regulación de la presión arterial, en la producción de infarto del miocardio y shock, en la insuficiencia renal crónica, en el mecanismo de erección del pene, y el posible rol fundamental en la etiología de la preeclampsia, que resultaría del desbalance entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras.*

### Introducción

Desde que hace pocos años se describió el rol preponderante del endotelio en la regulación del tono vascular y de la hemodinámica fisiológica y patológica, y que le ha llevado a ser considerado un órgano endócrino, por los efectos de sustancias producidas y secretadas por sus células, nos ha tocado asistir a un impresionante flujo de conocimientos nuevos en relación al probable control de funciones fisiológicas y posible rol

fisiopatológico de múltiples entidades en los que intervendrían estas sustancias mediadoras.

Es así que hemos debido familiarizarnos con nuevos conceptos en relación a la hemodinámica y regulación del tono vascular; al concepto de un tono vascular activamente dilatado en respuesta a mediadores químicos; a manejar ciertos procesos fisiopatológicos como resultado de desbalances entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras; al tratamiento más adecuado de cier-

<sup>1</sup> Profesor de Fisiología F.C.M.

tas entidades clínicas con el uso de antiguos métodos ahora explicados científicamente; en fin a intentar la explicación fisiopatológica de enfermedades hasta ahora sin adecuada respuesta.

Es en este contexto en que día a día surgen nuevos experimentos y resultados de investigaciones científicas que nos llevan a pensar en la posibilidad de explicar procesos hasta ahora inexplicables.

A partir de las primeras publicaciones en 1989 sobre el posible rol de sustancias producidas por el endotelio vascular y llamadas ENDOTELINAS diversos grupos de investigación desarrollan grandes esfuerzos que contribuyen a entender científicamente el rol fisiológico y fisiopatológico de estas sustancias.

Endotelinas son péptidos de 21 aminoácidos, formados por hidrólisis de grandes péptidos (big endothelin) (1), producidos por células del endotelio vascular, tanto en cultivo como in vivo (2), que se ha demostrado tienen potente efecto vasoconstrictor y acción mitógena en algunos tipos de líneas celulares (3). La producción y liberación de endotelinas por células del endotelio vascular ha sido ampliamente demostrada con uso de variadas técnicas como Radioinmunoanálisis, Cromatografía gas-líquido, Pruebas inmunológicas, Hibridación de RNA, etc. y sus efectos han sido demostrados por sendas pruebas farmacológicas y experimentales de diversa índole así como han sido usados Autorradiografía y Pruebas citohistoquímicas para determinar la presencia de receptores específicos para endotelinas en múltiples tipos de músculo liso y líneas celulares diversas en especial mesenquimatosas.

Los reportes sobre Endotelinas han dejado establecido que son varias sustancias semejantes las que ejercen la acción en los órganos efectores, y se las denomina gran ET1, ET1, ET2 y ET3 para cada una de las cuales existen receptores específicos y funciones preponderantes dependiendo del

sitio de acción de cada una, pero con una función común vasoconstrictora potente de músculo liso y estimulante del crecimiento de algunos tipos de células mesenquimatosas (4).

Se ha determinado algunos de los pasos enzimáticos en la síntesis de Endotelinas y se ha demostrado por ejemplo que a partir de gran ET se pueden obtener ET1 y fragmentos C terminal por mediación de la enzima Cathepsin-E pero no la Cathepsin-D (5, 6), demostrando su mayor actividad en plasma; y que la actividad convertidora de ETs puede ser inhibida por diferentes compuestos como Pepstatin-A (enzima activada por iones metálicos monovalentes) (7) o por EDTA y EGTA según las circunstancias (8).

Presencia de endotelinas ha sido demostrada en muchos tejidos y líquidos orgánicos (leche materna, líquido amniótico, sangre materna y de cordón umbilical, cuerpos cavernosos líquido cefalorraquídeo) (9 - 14). La gran distribución de receptores específicos en el organismo (placenta, muchos tipos de músculo liso, cardiovascular, renal, vejiga, etc) y tejido nervioso, fibroblastos (14 - 18), entre otros, sugiere que endotelinas juegan un importante rol fisiológico y fisiopatológico.

Las acciones fisiológicas de endotelinas parecen ser fundamentales en la regulación del tono vascular, por su poder vasoconstrictor; y en el crecimiento de ciertos tipos de células mesenquimatosas, por su poder mitógeno.

Las implicaciones terapéuticas del uso de endotelinas en entidades específicas dependerá fundamentalmente del desarrollo del conocimiento cabal de su metabolismo y mecanismo de acción y del desarrollo de sustancias farmacológicas inductoras o antagonistas específicas de la actividad de endotelinas.

La liberación de endotelinas por cultivos de células endoteliales es modulada por una variedad de estímulos físicos y quí-

micos, pero no se han identificado sitios de almacenamiento, lo que sugiere que la liberación es regulada a nivel de transcripción o translocación (1). Se ha observado incremento de la liberación de ET inducido por trombina, EDLF (human-murine-derived-endogenous factor) (19-21) y por Interleucina I derivada de macrófagos (22); y disminución de la capacidad de unión de ET a sus receptores por Phorbol-éster, por un mecanismo mediado por proteinkinasa C (23). El poder constrictor de músculo liso por endotelinas ha sido ampliamente demostrado. En varios estudios experimentales se ha observado que endotelinas, particularmente ET1 que es la más estudiada, incrementa el nivel de calcio intracelular en cultivos de células como fibroblastos (18) y especialmente de endotelio humano (24, 25) (y también en animales) tanto en presencia como en ausencia de calcio extracelular (24) probablemente a través de inducir la formación de IP3 (Inositol 1, 4, 5 trifosfato) (24), así como incrementa la velocidad de fosforilación de miosina en células de músculo liso humano (25). En ausencia de calcio extracelular, los efectos de endotelina se ven atenuados, pero no abolidos, y están disminuidos en presencia de sustancias bloqueadoras de los canales de calcio (25). Lo que sugiere fuertemente que el mecanismo de constricción del músculo liso (vasoconstricción) por endotelina es estimulando el flujo de calcio y la salida de  $Ca^{++}$  de los depósitos intracelulares, lo que ocasiona hiperpolarización del tejido (26), así como incrementando la velocidad de fosforilación de la miosina (25). En algunas células, los canales de calcio se activan indirectamente, secundariamente a la activación de canales de otro tipo de catión (27). También se ha observado una fuerte estimulación del intercambio Na:H, la bomba Na/K y el contranporte de Na-K-C1 (28), iones monovalentes; e inducción de la activación de fosforilasa C y Fosfolipasa A2 por señales transmitidas al endotelio del músculo liso (29); lo

que señala que los efectos contractiles de endotelina no pueden ser explicados solamente por acción sobre los canales de calcio (17)

La extensa distribución de receptores de ET1 en el sistema cardiovascular (aurículas, ventrículos, aorta, basilar, renal, yugular) confirma que endotelina es una de las sustancias endógenas que controlan el tono vascular (30). Así, se ha demostrado que ET1 induce vasoconstricción lenta y sostenida con un poder 100 veces mayor que el de norepinefrina, demostrando que ET1 es el más potente vasoconstrictor conocido (26), y que este efecto solo es antagonizado por bloqueadores de los canales de calcio y no por antagonistas adrenérgicos, colinérgicos u otros (26).

Las células endoteliales liberan factores relajantes o constrictores; Oxido Nítrico y prostaciclina son vasodilatadores, endotelina es el más potente vasoconstrictor, y parece ser el antagonista fisiológico de los factores relajantes derivados del endotelio (31, 32); así, el endotelio puede afectar el tono vascular del músculo liso de una manera autócrina (33), regulando tanto el tono como la estructura vascular (34, 35). En condiciones fisiológicas, los factores relajantes parecen dominar en el control del tono vascular de pequeños y grandes vasos, mientras en estado de enfermedad, (hipertensión, arterioesclerosis), factores de contracción son liberados (31, 36). Con estos antecedentes se comprende que el comportamiento de la función endotelial puede ser importante en la patogenia de varias formas de enfermedades vasculares, y que alteraciones de la relación NO/ET son indicativas de disfunción endotelial (37). En arterias humanas normales NO inhibe la contracción inducida por ET1 mientras que ET1 atenúa los efectos de NO y nitrovasodilatadores en venas; estos efectos pueden ser especialmente importantes en condiciones patológicas asociadas con niveles elevados de ET1 y en el uso de venas para bypass coronarios (38).

Múltiples reportes sugieren un rol para Endotelinas en la fisiopatogenia de variados trastornos:

Infusión intravenosa de ET1 induce incremento de la presión sanguínea mientras concentración sérica de K, renina, aldosterona, y FNA no son afectados (39, 40). Las concentraciones plasmáticas de ET1 se han demostrado significativamente mayores en sujetos con hipertensión esencial en relación a individuos sanos, habiendo correlación positiva entre PAM, creatinina y ET, y correlación negativa con la filtración glomerular; lo que ha permitido sugerir que el incremento en la producción o liberación de ET puede contribuir, por lo menos parcialmente, en la patogenia de la enfermedad (41). Concentración de ET1 basal y post estímulo (frio), se halla incrementada y en relación al vasoespasmo en pacientes con Enfermedad de Raynaud (15).

Se ha sugerido que ET puede inducir proliferación de músculo liso y por tanto ser proaterogénico (35), por lo que ha sido sugerido el uso de valores de ET circulantes como de FNA, como índice predictivo de aterosclerosis, una de las mayores complicaciones de la hipertensión (42).

ETs han sido reportadas muy elevadas en la fase aguda del Infarto de miocardio y en el Shock, pero normales en Angina de pecho estable; habiendo correlación positiva con el grado de lesión y la alteración del sistema trombina-antitrombina III (1, 43). El desarrollo de inhibidores o antagonistas de ET es probable que sea de mucha ayuda en los próximos años en el tratamiento de este tipo de pacientes.

Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica, mantienen potentemente contraídos por ET, con un efecto dependiente de la dosis (12), resultados que sugieren que ET puede jugar un rol en el mecanismo de erección del pene.

— Se ha sugerido que en el Sistema Nervioso Central, ETs actuarían no solo como vasoconstrictores sino como neuropéptidos, en particular ET1, y ET3 (46, 47). Así lo demuestra el incremento de calcio intracelular en células gliales inducido por ETs (46), y los niveles elevados de ET1 en LCR de pacientes con enfermedad cerebrovascular antigua en relación a los niveles plasmáticos de sujetos normales (48). Gran ET es la molécula en mayor concentración en líquido cerebroespinal a diferencia que en plasma (ET1) y no se observa correlación entre los valores plasmáticos y de LCR en cuanto a ETs sugiriendo que ETs presentes en LCR surgen de procesos diferentes al de células endoteliales y sugieren un rol como modulador de funciones neuronales (13). Igualmente el hallazgo de niveles significativamente elevados de ET3 en LCR de pacientes con hemorragia subaracnoidea (49), sugiere que ET3 podría participar en el vasoespasmo cerebral y concretamente en el deterioro neurológico (14, 50).

Regulación parácrina está implicada en la biosíntesis y secreción de leche por la mama; ET3 inhibió la secreción de Prolactina en cultivos de células de hipófisis anterior (51), mientras que receptores específicos y respuesta bioquímica a ET se han demostrado en células estromales de la mama (52); datos que son confirmatorios de un comportamiento de ET como neuropéptido en el control de la función lactotropa. Finalmente, estudios por Hibridación de RNA han proveído evidencia de transcripción genética de ET en muchas regiones funcionales del cerebro, con la más alta densidad en el hipotálamo y se ha descubierto por inmunohistoquímica actividad de endotelina en muchas neuronas, confirmando que ET es un neuropéptido sintetizado en células nerviosas (53, 54). La generalizada distribución, sugiere un amplio rol para ETs

en la regulación de las funciones del sistema nervioso.

Concentraciones de ETs en sangre tanto arterial como venosa de cordón umbilical han sido halladas significativamente mayores que en sangre materna, y se correlacionaron entre sí, lo que indica que ETs pueden ser secretadas activamente en la sangre fetal (11). Receptores específicos para ETs en membranas de placenta humana han sido perfectamente establecidos, con mayor afinidad para ET1 (55) demostrando que ET1 debe jugar un importante papel posiblemente modulador de la resistencia vascular fetoplacentaria; efectos presores que podrían estar mediados por una combinación de efectos directos y por estimulación de prostanoides vasoconstrictores (55).

Niveles de ET durante el embarazo normal han sido determinados tanto en plasma materno como en líquido amniótico; el nivel plasmático de ETs se incrementó gradualmente durante el embarazo y fue significativamente alto a partir de la semana 29 y durante la labor de parto. ETs en líquido amniótico estuvieron elevadas al momento del parto y fueron significativamente mayores que en plasma. Después del parto los niveles de ET1 maternos disminuyeron gradualmente y dos días después alcanzaron el nivel de las no embarazadas (56). Las concentraciones significativamente elevadas de ET en plasma de mujeres con HIE y que retornaron a valores normales después de 48 horas del parto, parecen ser predictivas de la pronta recuperación de este vasoespasmo asociado a esta enfermedad, soportando la hipótesis de que células endoteliales tienen que ver con el desarrollo de la pre-eclampsia (57).

El efecto de Endotelina en la función plaquetaria se ha estudiado en humanos, conejos y perros. En ciertas circunstancias endotelina puede potenciar agregación

plaquetaria mediada por ADP en conejos y perros, sin embargo no produce efectos directos en la función plaquetaria humana (58, 59, 60).

Actividad de ET1 se ha detectado en algunas líneas de células cancerosas humanas (mama, páncreas, colon) en cantidad suficiente como para estimular el crecimiento, sugiriendo la posibilidad que ET1 producido por células cancerosas juegue un rol modulando el crecimiento de células estromales que rodean a las células cancerosas (4).

De lo enunciado se desprende que las posibilidades funcionales, fisiopatológicas y terapéuticas de las Endotelinas son enormes de llegar a establecer con exactitud los mecanismos de acción molecular, el metabolismo y sus enzimas; de lograr controlar a voluntad la formación y liberación de ETs o el bloqueo de su producción y liberación; estaremos a las puertas de lo que será sin duda uno de los más grandes pasos de la medicina moderna, fundamentalmente en la prevención de ciertas enfermedades y de graves complicaciones en que estos mediadores se encontrarían implicados.

### Referencias Bibliográficas

1. Anggard, E.E.; Botting, R.M.; Vane, J.R.: Endothelins. *Blood Vessels*, 27: 269, 1990.
2. Lee, M.E., Bloch, K.D., Clifford, J.A., Quertemous, T.: Functional analysis of the endothelin-1 gene promoter. Evidence for an endothelial cell-specific cis-acting sequence. *J Biol Chem*, 265: 10446, 1990.
3. Grone, H.J., Lane, A., Fuchs, E.: Localization and quantification of (125I)-endothelin binding sites in human fetal and adult kidneys—relevance to renal ontogeny and pathophysiology. *Klin Wochenschr*, 68: 758, 1990.
4. Kusuha M; Yamaguchi K; Nagasaki K; Hayaishi G; Suzuki A; Hori S; Handa S; Nakamura, Y.; Abe, K. Production of endothelin in human cancer cell lines. *Cancer-Res*; 190 Jun1;

- 50 (11); p. 3257-61.
5. Sawamura, T.; Shinmi, O.; Kishi, N.; Sugita, Y.; Yanagisawa, M.; Goto, K.; Masaki, T.; Kimura, S. Analysis of big endothelin-1 digestion by cathepsin D. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1990, Oct 30; 172 (2); p. 883-9.
  6. Less W.E.; Kalinka, S.; Meech, J.; Capper, S.J.; Cook, N.D.; Kay, J. Generation of human endothelin by cathepsin E. *FEBS-Lett*; 1990 Oct 29; 273 (1-2); p. 99-102.
  7. Wu-Wong JR; Bulzik GP; Deviene EM; Oppenorth TJ. Characterization of endothelin in converting enzyme in rat lung. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1990 Sep 28; 171 (3); p. 1291-6.
  8. Ohnaka K; Takayanahgi R; Yamauchi, T.; Okazaki, H.; Ohashi, M.; Umeda, F.; Nawata, H. Identification and characterization of endothelin converting activity in cultured bovine endothelial cells. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1990 May 16; 168 (3); p. 1128-36.
  9. Lam, H.C.; Takahasi, K.; Ghatei, M.A.; Bloom, S.R. Presence of immunoreactive endothelin in human milk. *FEBS-Lett*; 1990, Feb 12; 261 (1); p. 184-6.
  10. Sunnergren, K.P.; Word, R.A.; Sambrook, J.F.; Macdonald, P.C.; Casey, M.L. Expression and regulation of endothelin precursor mRNA in avascular amnion. *Mol-Cell-Endocrinol*; 1990 Jan 2; 68 (1) p. R 7-14.
  11. Nakamura, T.; Kasai, K.; Emoto, T.; Banba, N.; Ishikawa, M.; Shimoda, S. Immunoreactive endothelin concentrations in maternal and fetal blood. *Life-Sci*; 1990, 46 (15); p. 1045-50.
  12. Holmquist, F.; Andersson, K.E.; Heldlund, H.; Accion of endothelin on isolated corpus cavernosum from rabbit and man. *Acta - Physio-Scan*; 1990, May; 139 (1); p. 113-22.
  13. Yamaji, T.; Johshita, H.; Ishibashi, M; Takaju, F.; Ohono, H.; Suzuki, N.; Matsumoto, H.; Fujino, M. Endothelin family in human plasma and cerebrospinal fluid. *J:Clin Endocrinol: Metab*; 1990, Dec.; 71 (6); p. 1611-5.
  14. Kraus, G.E.; Bucholz, R.D.; Yoon, K.W.; Kneuper, M.M.; Smith, Jr. Cerebrospinal fluid and endothelin-3 levels in normal and neurosurgical patients: a clinical study and literature review. *Surg-Neurol*; 1991, Jan; 35 (1) p. 20-9.
  15. Zamora, M.R.; O'Brien, R.F.; Rutherford, R. B.; Weil, J.V.; Serum endothelin-1, concentrations and cold provocation in primary Raynaud's phenomenon. *Lancet*; 1990, Nov. 10; 336 (8724); p. 1144-7.
  16. Maggi, C.A.; Giuliani, S.; Patacchini, R.; Barbanti, G.; Turini, D.; Meli, E. Contractile responses of the human urinary bladder, renal pelvis and renal artery to endothelins and sarafotoxin, S6b.
  17. de Aguilera, E.M.; Irurzun, A.; Vila, J.M.; Aldasoro, M.; Galeote, M.S.; Lluchn, S. Role of endothelium and calcium channels in endothelin-induced contraction of human cerebral arteries. *Br-J-Pharmacol*; 1990, Mar; 99 (3); p. 439-40.
  18. Ohnishi-Sizaki, A.; Yamaguchi, K; Kusuhara, M; Adachi, I; Abe, K.; Kimura, S. Comparison of biological activities of endothelin-1, -2 and -3, in murine and human fibroblast cell lines. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1990, Jan, 30; 166 (2); p. 608-14.
  19. Yamada, K.; Goto, A; Hui, C.; Sugimoto, T. Endogenous digitalislike factor as a stimulator of endothelin secretion from endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 1990 Oct 15; 172 (1); 178-83.
  20. Maruyama, I. Synthetic anticoagulant. Rinsho-Ketsueki; 1990, Jun; 31 (6); p. 776-81.
  21. Kokno, M; Yasunari, K; Yokokawa; Horio, T; Kanayama, Y.; Fuzisawa, M; Inoue, T.; Takeda, T. Thrombin stimulates the production of immunoreactive endothelin-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Metabolism*; 1190 Octy; 39 (10); p. 1003-5.
  22. Yoshizumi, M.; Jurihara, H.; Morita, T.; Yamashita, T.; Oh-hashi, Y; Sugiyama, T.; Takaku, F.; Yanagisawa, M; Masaki, T.; Yazaki, Y. Interleukin 1 increases the production of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1992, Jan 15; 166 (1); p. 234-9.
  23. Resink, T.J.; Scott-Burden, T.; Weber, E.; Buhler, F.R.; Phorbol ester promotes a sustained down-regulations of endothelin recep-

- tors and cellular responses to endothelin in human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 1990, Feb. 14; 166 (3), p. 1213-9.
24. Luscher, T.F. Imbalance of endothelium-derived relaxing and contracting factors. A new concept in hypertension?. *Am J Hypertens*, 1190, 3 (4), p. 317-30.
  25. Suzuki, N.; Matsumoto, H.; Miyauchi, T.; et al. Endothelin-3, concentrations in human plasma: the increased concentrations in patients under going haemodialysis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990, 169 (2), p. 809-15.
  26. Grone, H.J.; Lane, A. and Fuchs, E. Localization and adult kidneys-relevance to renal ontogeny and pathophysiology. *Klin-Woehenschr*, 1990, 68 (15), p. 758-67.
  27. Lovernberg, W.; Miller, R.C. Endothelin: a review of its effects and possible mechanisms of action. *Neurochem-Res*; 1990, Apr; 15 (4), p. 407-17.
  28. Rosati, C.; Jeanelos, E.; Cavalier, S.; Chabrier, P.E.; Hannaert, P.; Braquet, P.; Garay, R. Stimulatory action of endothelin-1 on Membrane Na<sup>+</sup> transport in vascular smooth muscle cells in culture. *Am-J-Hypertens*; 1990, Sep; 3 (9); p. 711-3.
  29. Resink, T.J.; Scott-Burden, T.; Buhler, F.R. Activation of multiple signal transduction, pathways by endothelin in cultured human, vascular smooth muscle cells. *Eur J Biochem*; 1190, Apr. 30; 189 (2); p. 415-21.
  30. Takayanagi, R.; Hashiguchi, T.; Ohashi, M.; Nawata, H. Regional, distribution of endothelin receptor in porcine cardiovascular tissues. *Regul Pept*; 1990, Feb. 4; 27 (2); p. 247-55.
  31. Luscher, T.F.; Richard, V.; Tschudi, M.; Yang, Z.H.; Boulanger, C. Endothelial control of vascular tone in large and small coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*; 1990, Mar; 15 (3); p. 519-27.
  32. Suzuki, N.; Matsumoto, H.; Kitada, C.; Kimura, S.; Miyauchi, T.; Fujino, M.A. sandwich-type enzyme immunoassay to detect immunoreactive bio endothelin I in plasma. *J Immunol Methods*; 1990, Mar 9; 127 (2) p. 165-70.
  33. Nufiez, D.J.; Brown, M.J.; Davenport, A.P.; Neylon, C.B.; Schofield, J.P.; Wyse, R.K.; Endothelin 1 mRNA is widely expressed in porcine and human tissues. *J Clin Invest*; 1990 May; 85 \*5); p. 1537-41.
  34. Resink, T.J.; Hahn, A.W.; Scott-Burden, t.; Powell, J.; Weber, E; Buhler, F.R. Inducible endothelin mRNA expression and peptide secretion in cultured human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 1990, May 16; 168 (3); p. 1303 - 10.
  35. Bath, P.M.; Mayston, S.A.; Martin, J.F. Endothelin and PDGF do not stimulate peripheral blood monocyte chemotaxis, adhesion to endothelium, and superoxide production.
  35. Bath, P.M.; Mayston, S.A.; Martin, J.F. Endothelin and PDGF do not stimulate peripheral blood monocyte chemotaxis, adhesion to endothelium, and superoxide production. *Exp Cell Res*; 1990, Apr; 187 (2); p. 339-42.
  36. Luscher, T.F. Imbalance of endothelium-derived relaxing and contracting factors. A new concept in hypertension?. *Am J Hypertens*; 1190, Apr; 3 (4); p. 317-30.
  37. Luscher, T.F.; Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. *Lung*; 1990; 168 Supple; p. 27 - 34.
  38. Luscher, T.F.; Yang, Z.; von Segesser, L.; Stulz, P.; Boulanger, C.; Siebenman, R.; Turina, M.; Buhler, F.R. Interaction between endothelin-1 and endothelium-derived relaxing factor in human arteries and veins. *Circ-Res*; 1990, Apr; p. 1088-94.
  39. Vierhapper, H.; Wagner, O.; Nowotny, P.; Waldhausl, W. Effecto of endothelin-1 in man. *Circulation*; 1990, Apr; 81 (4); p. 1415-8.
  40. Shichiri, M.; Hirata, Y.; Ando, K.; Emori, T.; Ohta, K.; Kimoto, S.; Ogura, M.; Inoue, A.; Marumo, F. Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension*; 1990, Mayo; 15 (5); p. 493-6.
  41. Kohono, M; Yasunari, L.; Murakawa, K.; Yokokawa, K.; Horio, T.; Fukui, T.; Takeda, Y. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am J Med*; 1990, Jun; 88 (6), p. 614-8.

42. Takahasi, H.; Nishimura, M.; Yoshimura, M. Pathophysiology and laboratory examinations of essential hypertension a review of recent topics. *Rinsho-Byori*; 1990, Mayo; 38 \*5); p. 563-7.
43. Yasuda, M; Kohono, M.; Tahara, A.; Toda I; Akioka, K.; Teragaki, M.; Oku, H.; Takeuchi, K.; Takeda, T. Circulating immunoreactive endothelin in ischemic heart disease. *Am Heart J*; 1990; Apr; p. 301-6.
44. Warrens, A.N.; Cassidy, M.J.; Takahashi, K.; Gatheh, M.A.; Bloom, S.R. Endothelin in renal failure. *Nephrol-Dial-Transplant*; 1990; 5 (6); p. 418-22.
45. Suzuki, N.; Matsumoto, H.; Goto, K.; Masaki, T.; Tsuda, M.; Fujino, M. Endothelin-3 concentrations in human plasma; the increased concentrations in patients undergoing haemodialysis. *Biochem Biophys Res Commun*; 1990, Jun 15; 169 (2); p. 809-15.
46. Zhang, W.; Sakai, N.; Yamada, H.; Nozawa, Y. Endothelin-1 induces intracellular calcium rise and inositol 1, 4, 5 - trisphosphate formation in cultured rat and human glioma cells. *Nwuri-ci-Lett*; 1990, May 4; 112 (2-3); p. 199-204.
47. Shigeno, T.; Mima, T. A new vasoconstrictor peptide, endothelin: profiles as vasoconstrictor and nuropeptide. *Cerebrovasc-Brain-Metab Rev*; 1990, Fall; 2 (3); p. 227-39.
48. Hirata, Y.; Matsunaga, T.; Ando, K.; Furukawa, t.; Tsukagoshi, H.; Marumo, F. Presence of endothelin-1-like immunoreactivity in human cerebrospinal fluid. *Biochem-Biophys-Res-Commun*; 1990 Feb 14; p. 1274-8.