

Udział endotelin w procesach fizjologicznych i patologicznych

JANUSZ A. MADEJ

Katedra Anatomii Patologicznej, Fizjopatologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Madej J. A.

The participation of endothelins in physiological and pathological processes

Summary

Endothelins (ET) present a group of peptides, which are synthesized in vascular endothelium. Biological effects of their activity encompass a number of processes in the organism. The ET influence the on contraction of the vascular smooth muscle and bronchial muscles is widely known. There is emphasized their input in renal infiltration control and also on hormones of adrenal gland and pituitary gland. Endothelins are functioning as neurotransmitters and neuromodulators. They show mitogenic action and also influence on fibroblasts proliferation.

Nevertheless, appearing and development of numerous pathological processes is connected with endothelins action. Among them one may specify arterial hyper-tension, bronchial asthma, the increase of mucous secreting in the respiratory tract and tissue swelling. They show pro - inflammatory, ulcerogenic and atherogenic action. There is shown the ET participation in myocardial infarction, increase of peroxides production and in inducing tissue fibrosis.

Keywords: endothelins (ET), physiological and pathological processes

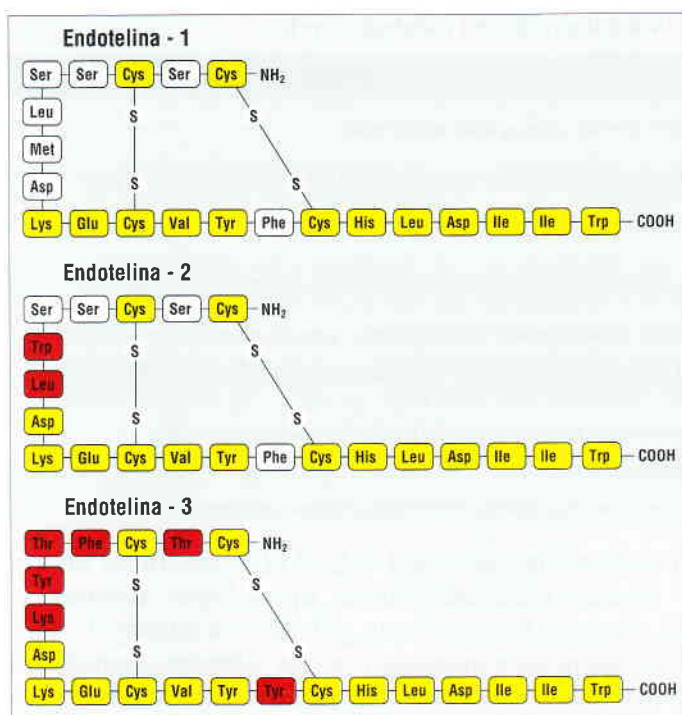
Komórki śródbłonna naczyń krwionośnych (*endothelium*) stanowią monopłaszczyzną i zajmują u ludzi powierzchnię 1000 m² i mają masę ok. 1,5 kg. Wraz z błoną podstawną są selektywną barierą ochronną zapobiegającą przechodzeniu składników krwi na zewnątrz naczyń oraz biorą udział w transporcie dwu- i trójglicerydów, dzięki obecności w nich czynnika stabilizującego lipazę lipoproteinową (18). Komórki śródbłonna uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej, zwłaszcza komórki tzw. żyłek o wysokim śródbłonku – HEV's (high endothelial venule), które warunkują wybiórczą migrację przez ścianę naczyń subpopulacji limfocytów oraz HEV's – like (podobne do *endothelium*) pojawiające się w stanach zapalnych w tkance nielimfatycznej. Komórki *endothelium* wykazują także zdolność angiogenezy, co ma istotne znaczenie zwłaszcza w rozplemie nowotworowym, wykazują działanie prokoagulacyjne, antykoagulacyjne oraz fibrynolityczne (6). Komórki śródbłonna uczestniczą w regulacji stanu napięcia mięśni gładkich, poprzez produkcję i sekrecję substancji wazoaktywnych działających naczyniorozszerzająco lub naczyniozężająco (22). Te ostatnie właściwości, czyli udział komórek śródbłonna w regulacji napięcia ściany naczyniowej budzą ostatnio szczególne zainteresowanie.

Yanagisawa i wsp. (21) wyizolowali z hodowli *endothelium* aorty świni peptyd, który został nazwany endoteliną (ET) i jest identyczny z peptydem ludzkim. zauważono, że ET powoduje skurcz mięśni gładkich

naczyń krwionośnych silniej aniżeli jakikolwiek dotychczas poznany czynnik naczyniozężający, jak również posiada ona właściwości bronchospastyczne i to zarówno *in vivo* jak i *in vitro* (2). Później ET wykryto w innych komórkach u ludzi i zwierząt, a mianowicie w komórkach nabłonka, monocytach, makrofagach, limfocytach, fibroblastach oraz aktywowanych neutrofilach (23).

Endoteliny stanowią rodzinę izopeptydów, a mianowicie: endotelina-1 (ET-1), 2 (ET-2) i 3 (ET-3) i są zbudowane z polipeptydowego łańcucha zawierającego 21 aminokwasów (2). ET-2 różni się od ET-1 substytucją dwóch, a ET-3 – sześciu aminokwasów. Różnice w sekwencji determinują odmienną aktywność biologiczną endotelin. Spokrewnione ze sobą peptydy charakteryzują się ponadto obecnością dwóch wiązań S – S, które łączą w pary obecne w łańcuchu cystyny (Cys 1 – Cys 15 i Cys 3 – Cys 11) oraz identyczną sekwencję sześciu aminokwasów w karboksylowej części ich cząsteczek (ryc. 1). Najsilniej działającym czynnikiem naczyniozężającym jest ET-2, a najsłabszym ET-3. Ta ostatnia działa natomiast najsilniej naczyniorozszerzająco (2).

Budowa ET jest u ssaków odmienna od innych peptydów biologicznie czynnych, wykazuje ona natomiast podobieństwo do toksyny pszczoł, skorpionów i węża *Atractaspis engadensis* – tj. sarafotoksyny, zawierającej w 70% podobną sekwencję aminokwasów i dwa wiązania dwusiarczkowe (12). Inni zaliczają endoteliny do hormonów peptydowych syntetyzowanych i



Ryc. 1. Struktura pierwszorzędowa izopeptydów endotelinowych

uwalnianych, jak już wspomniano, z komórek śródbłonka (11).

Synteza endoteliny zachodzi w cytoplazmie produkujących ją komórek na drodze proteolizy z prekursorów, tj. preproendoteliny – wyjściowego oligopeptydu złożonego z 212 aminokwasów u człowieka i 203 u świni, który przekształcony jest w 38 aminokwasową proendotelinę, czyli tzw. endotelinę dużą (ET₃₈) prawdopodobnie pod wpływem endopeptydazy (1). Z niej powstaje aktywna biologicznie forma endoteliny (ET₂₁), przy udziale domniemanego enzymu konwertującego. U ludzi za syntezę endoteliny odpowiedzialny jest gen zlokalizowany na 6 chromosomie i składający się z 2233 nukleotydów, kodujących 238-aminokwasowy prekursor (15). Tor syntezy ET podlega regulacji na poziomie transkrypcji, a ekspresję genów mogą u zwierząt zwiększać, i to zarówno *in vitro* jak i *in vivo*, takie substancje jak: TGF-alfa (transforming growth factor – transformujący czynnik wzrostu), IL (interleukiny) – 1, 2, 6, 8, GM – CSF (granulocyte – macrophage colony stimulation factor – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów), trombina, angiotensyna, adrenalina, wazopresyna, jony wapnia, endo- i egzotoksyny oraz niedotlenienie; obniżają ją natomiast glikokortykosterydy (5). Zauważono także, że stymulowana trombiną synteza ET-1 ulega obniżeniu w obecności heparyny, głównie z powodu inaktywacji trombiny przez ten mukopolisacharyd. Przypuszcza się, że hamowanie produkcji ET-1 przez heparynę zachodzi na poziomie transkrypcji (3).

Endoteliny nie są magazynowane w komórce lecz produkowane *de novo*. Biodegradacja ET zachodzi pod wpływem obojętnej endopeptydazy – NEP (neutral endopeptidase), zwłaszcza w płucach i nerkach. Za-

uważono, że aż 80% endoteliny wydziela się w kierunku błony podstawnej produkujących ją śródbłonek i nabłonek, a tylko 20% przechodzi do krwi. Czas połowicznego trwania ET we krwi wynosi ok. 7 sekund, ale przyłączenie endoteliny do receptora i następująca internalizacja kompleksu receptor – ligand do cytozolu, chroni ją przed biodegradacją i przedłuża ten czas (14).

Receptory endotelinowe charakteryzują się wysoką zgodnością sekwencji aminokwasowej pomiędzy różnymi gatunkami ssaków. I tak dla odcinka – COOH wynosi ona 94% u ludzi i bydła i 93% dla szczura, mniejsza jest natomiast dla odcinka – NH₂ (1). Podtyp receptora, wykazujący podobieństwo ET-1 > ET-2 > ET-3 oznacza się jako ET_A, a podtyp z podobieństwem ET-1 = ET-2 = ET-3 jako ET_B. ET_A receptor rozpoznaje grupę NH₂ końca endoteliny, a ET_B receptor – grupę COOH (15). Najwięcej receptorów endotelinowych jest w układzie sercowo-naczyniowym, płucach, nerkach, mózgu, nadnerczu, śledzionie, wątrobie, przewodzie pokarmowym i łożysku. W naczyniach krwionośnych endoteliny obecne są w śródbłonku i mięśniach gładkich. Na powierzchni komórek śródbłonka oraz mięśni gładkich oskrzeli jest dużo ET_B, natomiast w mięśniach gładkich naczyń – ET_A (16).

Udział ET w procesach fizjologicznych

Endoteliny uważa się za neuromediatory lub miejscowo działające czynniki paraendokrynowe (13). Następstwem pobudzenia receptorów endotelinowych w ośrodkowym układzie nerwowym jest wzrost przemiany fosforanu inozytoli w komórkach nerwowych, co świadczy o neuroprzekaznikowej lub neuromodulacyjnej ich roli w tym układzie (tab. 1).

W układzie krążenia czynnikiem aktywującym syntezę i uwalnianie ET jest angiotensyna II i wazopresyna. W efekcie rośnie osoczowa endotelina, która prowadzi do uwolnienia z mięśnia sercowego przedsionkowego peptydu natriuretycznego – ANF/ANP (atrial natriuretic factors/polipeptides) i mózgowego peptydu natriuretycznego – BNF/BNP (brain natriuretic factors/polipeptides). Oba te peptydy działają antagonistycznie, powodując blokadę uwalniania ET przez angiotensynę i wazopresynę, dzięki wzrostowi w komórce stężenia cGMP (cykliczny 3' 5'-guanyzynomonofosforan).

Działanie endoteliny na komórki mezangialne kłębuszków nerkowych prowadzi do ich skurczu wskutek zmiany napięcia włókien aktyny oraz troponiny i następnego spadku filtracji kłębuszkowej, retencji soli i wody w ustroju z równoczesną aktywacją układu renina–angiotensyna–aldosteron (23). Komórki mezangium są funkcjonalnie powiązane z wypustkami podocytów uczestniczących w barierze filtracyjnej. Receptory podocytów reagują na substancje wazoaktywne takie jak endoteliny, NO, angiotensyna II i ANF/ANP, co wpływa na kurczliwość mikrofilamentów zbudowanych z aktyny, alfa-aktyniny i miozyny. Z kolei

komórki śródbłonka, poprzez działanie naczynioskurczowe ET, a także dzięki pobudzeniu migracji granulocytów, uczestniczą w ograniczeniu i niszczeniu ognisk zapalnych w nerkach. Biorą także udział w stymulacji limfocytów, zapewniając ich recyrkulację do ognisk zapalnych, poprzez bezpośrednią adhezję tych komórek do swej powierzchni (22).

Endoteliny modułują czynność endokrynną przysadki mózgowej wpływając na aktywność hormonu luteinizującego, folikulotropowego i tyreotropowego. Aktywacja ta odbywa się na poziomie komórkowym poprzez białka G (guanine nucleotide binding protein, guanosine triphosphate binding protein – przekąźnikowe białka zakotwiczone w błonie), składające się z podjednostek alfa, beta i gamma. ET-3 hamuje uwalnianie prolaktyny przez przysadkę i bierze udział w syntezie i sekrecji kortykosteroidów i katecholamin przez nadnercza. Takim właśnie działaniem endoteliny tłumaczy się jej presyjny efekt naczyniozężający, idący dwoma drogami, tj. poprzez stymulację mięśni naczyń oraz przez uwalnianie amin katecholowych, aldosteronu i innych kortykosteroidów (12).

Endoteliny są silnym spazmogenem mięśni gładkich oskrzeli poprzez receptor ET_B , a także mięśni naczyń płucnych, poprzez receptor ET_A (14). Kompleks receptor – agonista pobudza podjednostkę alfa białka G, które uaktywnia enzym błonowy fosfolipazę C, rozkładającą difosforan fosfatydyloinozytolu błon do diacyloglicerolu (DG) i 1, 4, 5-trifosforanu inozytolu (IP_3), które są informatorami II rzędu. Diacyloglicerol uczynnia fosfolipazę C, a IP_3 powoduje przechodzenie wapnia z gładkiej siateczki endoplazmatycznej do cytosolu. Następstwem jest aktywacja kinazy zależnej od jonów Ca^{++} i wtórnie uaktywnienie kanałów wapniowych z napływem zewnątrzkomórkowego wapnia do wnętrza gładkich miocytów (4). Powoduje to skurcz mięśnia. Ponadto białko G aktywuje fosfolipazę A_2 , która pobudza syntezę prostaglandyn, tromboksanów, leukotrienów i PAF (platelet activating factor – czynnik aktywujący płytki). Poprzez receptory ETB zlokalizowane na powierzchni *endothelium*, endotelina powoduje uwalnianie się z ich wnętrza substancji naczyniorozszerzających, tj. NO i prostacykliny PGI_2 (13).

Udział ET w procesach patologicznych

Endotelina pobudza miocyty gładkie naczyń płuc i oskrzeli do proliferacji i powoduje ich strukturalną przebudowę (8, 20) – tab. 1. Miocyty naczyniowe pro-

Tab. 1. Udział endoteliny (ET) w procesach fizjologicznych i patologicznych

Procesy fizjologiczne	Procesy patologiczne
Skurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych (tętnic i żył) i słaby ich rozkurcz	Nadciśnienie tętnicze, wczesny okres zawału serca
Skurcz mięśni gładkich oskrzeli	Astma oskrzelowa, przewlekła obturacyjna choroba płuc, przewlekłe „serce płucne”
Działanie mitogenne (miocyty naczyń, epitelioocyty oskrzeli)	Wzrost sekrecji śluzu w drogach oddechowych (ekspresja genu fibronektyny)
Wpływ na hormony przysadki mózgowej i pośrednio na nadnercza (kortykosterydy)	Wzrost produkcji toksycznych nadtlenków (makrofagi pęcherzykowe – oskrzelowe)
Neuroprzekazniki i neuromodulatory	Obrzęk tkanek (wzrost ciśnienia hydrostatycznego i przepuszczalności naczyń krwionośnych)
Regulacja filtracji kłębuszków nerkowych	Działanie prozapalne (wpływ na 15 – lipooksygenazę i produkcję eikozanoidów, aktywacja monocytów i makrofagów – IL-1, 8, TNF-alfa)
Ekspresja genów fibroblastów do podziału i produkcji kolagenu	Indukcja włóknienia tkanek i indukcja kolagenoz, np. twardziny układowej
	Nadmierna mitogeneza komórek
	Działanie wrzodotwórcze, choroba Leśniowskiego-Crohna, miażdżycza tętnic

dukują wiele substancji w ECM (extracellular matrix – macierz pozakomórkowa), np. kolagen, fibronektynę, elastynę, proteoglikany, glikozaminoglikany (GAG). Produkcja tych substancji ulega silnemu wzmożeniu w sytuacji uszkodzenia naczynia, w nadciśnieniu i tworzeniu się blaszek miażdżycowych. Endotelina aktywuje także fibroblasty do podziałów i produkcji kolagenu, a więc jest odpowiedzialna za proces włóknienia tkanek (9). ET zwiększa również w drogach oddechowych produkcję śluzu, jak również ilość toksycznych nadtlenków w makrofagach pęcherzykowo-oskrzelowych (18). Powoduje wzrost ciśnienia hydrostatycznego w mikrokrążeniu i wzrost przepuszczalności naczyń, w następstwie czego powstaje obrzęk tkanek (10).

Endotelina wykazuje działanie prozapalne poprzez wpływ na 15-lipooksygenazę i produkcję eikozanoidów, aktywuje monocyty i makrofagi do wydzielania cytokin: IL-8, IL-1-beta, TNF-alfa (tumor necrosis factor – czynnik martwicy nowotworów) i wpływa na migrację oraz adhezję leukocytów do śródbłonka naczyniowego.

Poziom ET rośnie w astmie oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc. Dzięki badaniom immunohistochemicznym, stwierdzono obecność endoteliny w nabłonku i śródbłonku oskrzeli chorych na astmę, jak również w hodowli tych komórek *in vitro* (cyt. za 11). Endoteliny są silnymi spazmogenami *in vitro* komórek izolowanych z tchawicy, oskrzeli i naczyń krwionośnych i to zarówno u ludzi jak i zwierząt (2). Skurcz izolowanych ludzkich wycinków oskrzeli wywołany ET-1 jest silniejszy od skurczu indukowanego histaminą czy acetylocholiną (4). U bydła efekt skurczu potęguje angiotensyna II (17). U świnki morskiej ET-1 podana w aerozolu lub dożylnie wywołuje skurcz oskrzeli, wzrost oporu dróg oddechowych i nadreaktywność na histaminę. Jednocześnie należy zaznaczyć, że silnym stymulatorem ET-1 *in vivo* i *in vitro* jest niedotlenienie, gdyż stężenie tego peptydu we krwi osób z przewlekłym „sercem płucnym” jest takie samo, jak u zdrowych ochotników poddanych krótkotrwałemu niedotlenieniu (6, 7).

Endotelina-1 wpływa na ekspresję genu fibronektyny, efektem czego jest wzrost wydzielania jej z komórek nabłonka oskrzeli. Fibronektyna magazynowana w przestrzeni podnabłonkowej jest z kolei silnym czynnikiem chemotaktycznym dla fibroblastów. Na fibroblasty i ekspresję ich genów odpowiedzialnych za syntezę kolagenu, wpływa ET-1, co łącznie poprzez oba opisane mechanizmy, indukuje włóknienie tkanek (17).

Podanie ET wywołuje dwufazową reakcję naczyniową, tj. początkowe krótkotrwałe obniżenie ciśnienia tętniczego, a później długotrwałe jego podwyższenie, przy czym faza pierwsza zależy prawdopodobnie od uwolnienia przez endoteliny nietrwałego, ale silnie działającego rozkurczająco na mięśnie gładkie naczyń EDRF (endothelium derived relaxing factor – śródbłonkowy czynnik rozkurczowy, czyli tlenek azotu – NO). ET bierze udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego, gdyż jej wzrost obserwuje się u osób z pierwotnym nadciśnieniem, np. u chorych na śródbłonniaka złośliwego naczyń krwionośnych (*haemangioendotheliosarcoma*). Po usunięciu nowotworu następuje normalizacja ET i spadek ciśnienia krwi (23). Poziom endoteliny rośnie także w nadciśnieniu płucnym.

ET wzrasta we wczesnym stadium zawału mięśnia sercowego, co prawdopodobnie jest wypadkową uszkodzenia komórek śródbłonka, niedotlenienia, niedokrwienia i aktywacji tzw. kaskady trombinowej (19). Obserwuje się odwrotnie proporcjonalną zależność między wielkością frakcji wyrzutowej a stężeniem osoczowej endoteliny w czasie powikłanego zawału serca, tzn. najwyższym stężeniem u chorych z najniższą frakcją wyrzutową.

ET można oznaczyć w tkankach metodą immunohistochemiczną ABC (avidin-biotin complex). Dzięki tej metodzie u szczurów, u których wywołano doświadczalnie zapalenie płuc przy pomocy SO₂, wykazano obecność endoteliny w komórkach Clara nabłonków końcowych oskrzelików, w pneumocytach typu II i makrofagach, obecnych w świetle pęcherzyków płucnych, tkance okołooskrzelowej i ogniskach rozplemu gruczołów oskrzelowych (11). U zwierząt zdrowych nieznaczną zawartość ET stwierdzano tylko w pojedynczych makrofagach i *endothelium*. Fakt ten ma istotne znaczenie w procesie zapalnym tkanek z udziałem makrofagów. Makrofagi bowiem, oprócz nieswoistych funkcji obronnych realizowanych poprzez fagocytozę, uczestniczą także w indukcji i podtrzymaniu procesu zapalnego. Wydzielają one endotelinę spontanicznie, jak również po stymulacji i odwrotnie, ET ma zdolność zwiększania ich aktywacji (7).

Endoteliny są silnymi mitogenami, tj. pobudzają komórki do podziału mitotycznego, działają wrzodotwórczo i są prawdopodobnie współodpowiedzialne za powstanie choroby Leśniowskiego-Crohna (12). ET biorą także udział w powstawaniu niektórych kolagenoz, np. twardziny układowej i najprawdopodobniej miażdżycy. W tej ostatniej niekorzystny niedobór tlenu azotu i endoteliny, który normalnie przeciwdziała

skurczowi tętnic, hamuje mnożenie się miocytów ściany naczyń krwionośnego i utrudnia adhezję trombocytów. Mimo tych wiadomości rola endoteliny w tych ostatnich chorobach nie jest do końca wyjaśniona i wymaga dalszych badań.

Piśmiennictwo

1. *Advanier C., Sarria B., Naline E., Pujbassat L., Lagente V.*: Contractive activity of three endothelins (ET-1, ET-2, ET-3) on the human isolated bronchus. *Br. J. Pharmacol.* 1990, 100, 168-172.
2. *Adachi M., Yang Y., Furiuchi Y., Miyamoto C.*: Cloning and characterization of cDNA encoding human A – type endothelin receptor. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 1991, 180, 1265-1272.
3. *Anderson S. E., Zacknisson C., Hemsan A., Lundberg I. M.*: Regulation of lung endothelin content by glucocorticosteroid budesonide. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 1992, 182, 8-13.
4. *Barnes P. J.*: Endothelins and pulmonary diseases. *J. appl. Physiol.* 1994, 77, 1051-1059.
5. *Calderon E., Celso E., Gomez-Sanchez P., Cozza E. N., Zohen M., Coffey R. G., Lockey R. F., Procop L. D., Szentivanczi A.*: Modulation of endothelin-1 production by a pulmonary epithelial cell line. *Biochem. Pharmacol.* 1994, 48, 2065-2071.
6. *Cargill R. I., Keily P. G., Clark R. A., Lipworth B. J.*: Hypoxaemia and releases of endothelin-1. *Thorax* 1995, 50, 1308-1310.
7. *Ferri C., Bellini C., Deangelis C., Desiati L., Perrone A., Properzi G., Santucci A.*: Circulatory endothelin-1 concentrations in patients with chronic hypoxia. *J. clin. Path.* 1995, 48, 519-524.
8. *Glasberg M. K., Ergul A., Wanner A., Puet D.*: Endothelin-1 promotes mitogenesis in airway smooth muscle cells. *Ann. J. Resp. Cell Mol. Biol.* 1994, 10, 316-321.
9. *Halset E., Ytrehus K., Tveita T., Kjaeve J., Jorgensen L.*: Endothelin causes accumulation of leukocytes in the pulmonary circulation. *Circul. Shock* 1994, 44, 201-209.
10. *Ishizaki T., Shigemori K., Nakai T., Miyabo S., Hagakawa M., Ozawa T., Voelkel N. F., Chang S.*: Role of the endothelins. *J. appl. Physiol.* 1995, 79, 1106-1111.
11. *Janowska B.*: Wpływ heparyny na ekspresję endoteliny w płucach szczurów z przewlekłym zapaleniem oskrzeli wywołanym dwutlenkiem siarki. Praca doktorska, AM, Wrocław, 2000.
12. *Kohno M., Yasunari K., Yokokawa K., Murakawa K., Horio T., Takeda T.*: Inhibition by atrial and brain natriuretic peptides of endothelin-1 secretion after stimulation with angiotensin II and thrombin of cultured human endothelin cell. *J. clin. Invest.* 1991, 87, 141-147.
13. *Levin E. R.*: Endothelins. *N. Eng. J. Med.* 1995, 10, 356-363.
14. *Marini M., Carpi S., Bellini A., Patalano G., Mattoli S.*: Endothelin-1 induces increased fibronectin expressin in human bronchial epithelial cells. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 1996, 200, 896-899.
15. *Masaki T., Yanagisawa M., Inoue A., Kimura S., Gioto K.*: Study on the endothelin gene and its expression. *Jap. cir. J.* 1990, 54, 1221-1225.
16. *Nagase T., Fuleuchi H., Matsui H., Matsuse T., Orimo H.*: In vivo effects endothelin A and B receptor antagonists in quina pigs. *Am. J. Physiol.* 1995, 17, 846-850.
17. *Nally J. E., Clayton R. A., Wakelman M. J. O., Thomson N. C., McGrath J. C.*: Angiotensin II enhances responses to endothelin-1 in bovine bronchial smooth muscle. *Pulm. Pharmacol.* 1994, 7, 409-419.
18. *Noveral J. P., Rosenberg S. M., Anbar R. A., Pawłowski N. A., Grunstein M. N.*: Role of endothelin-1 in regulating proliferation of cultural rabbit airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 1992, 263, 317-324.
19. *Stewart A. G., Griogoriadis G., Harris T.*: Mitogenic actions of endothelin-1 and epidermal growth factor in culture airway smooth muscle cells. *Clin. exp. Pharmacol. Physiol.* 1994, 21, 277-285.
20. *Stewart A. G., Kubac G., Costello K., Cenanck P.*: Increased plasma endothelin-1 in the early hours of acute myocardial infarction. *J. Am. coll. Radiol.* 1991, 18, 38-43.
21. *Wilson C., Hargreaves A.*: Inhibitor of the pharmacological effects of endothelin. *Prog. Med. Chem.* 1994, 31, 371-410.
22. *Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazak Y., Goto K., Masahi T.*: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cell. *nature* 1988, 332, 411-415.
23. *Yokokawa M., Tahara H., Kohno M., Murakawa K., Yasurari T.*: Hypertension associated with endothelin secreting malignant hemangioendothelioma. *Ann. Inter. Med.* 1991, 114, 213-215.