

11-1-1996

Endothelium: normal physiology and related disorders

S. Eiam-Ong

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

Recommended Citation

Eiam-Ong, S. (1996) "Endothelium: normal physiology and related disorders," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 40: Iss. 11, Article 7.

DOI: 10.58837/CHULA.CMJ.40.11.6

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjournal/vol40/iss11/7>

This Review Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

เอนโดธีเลียม: สรีรวิทยา และความผิดปกติที่เกี่ยวข้อง

สมชาย เอี่ยมอ่อง*

Eiam-Ong S. Endothelium: normal physiology and related disorders. Chula Med J Nov;40(11): 933-58

Vascular endothelial cells (endothelium), critically resided at blood-tissue interface, express important effects on vascular tone and permeability, regulate the coagulation and fibrinolytic system, mediate translocation of inflammatory cells to the tissue compartment, and modulate proliferation of vascular smooth muscle cells. Defects in endothelial biology and function have been identified in association with various human diseases. These include atherosclerosis, hypertension, inflammatory disorders, preeclampsia, diabetes, and acute and chronic renal failure etc. Recent studies have provided more insights into understanding the role of endothelium in these disorders, leading to a variety of new modalities of treatment.

Key words: Endothelium, Hypertension, Inflammation.

Reprint request : Eiam-Ong S. Department of Medicine, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. August 15, 1996.

Basic Knowledge^(1,2)

Endothelium (endothelial cell) เป็นเซลล์ซึ่งเรียงตัวเป็นแถวเดียว (monolayer) บุด้านในของหลอดเลือด (ทั้งชนิดแดงและดำ) ทำหน้าที่หลายประการได้แก่

1. ทำหน้าที่เป็นตัวกั้น (barrier) เป็นตัวควบคุมการขนส่งน้ำ, solute, และเซลล์เม็ดเลือดขาวระหว่าง vascular space และ tissue compartment
2. ทำหน้าที่เป็นเซลล์เป้าหมาย (Target cells) สำหรับ humoral และ cellular immune responses
3. ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ จากสาร inactive เป็นสาร active หรือจากสาร active ไปเป็นสาร inactive
4. ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม tone ของหลอดเลือด โดยสร้างสาร vasoconstrictor และ vasodilator ชนิดต่างๆ
5. ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมขบวนการ coagulation และ fibrinolysis
6. ทำหน้าที่สร้างสารต่างๆ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ชนิดต่างๆ (เช่น vascular smooth muscle cell)

1. Endothelium ทำหน้าที่เป็นตัวกั้น (barrier) เป็นตัวควบคุมการขนส่งน้ำ, solute, และเซลล์เม็ดเลือดขาวระหว่าง vascular space และ tissue compartment

เป็นหน้าที่ประการแรกของ endothelium ที่ถูกค้นพบ endothelium ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมคุณสมบัติในการซึมเคลื่อนที่ผ่าน (permeability) ของน้ำ, solute, macromolecule, เม็ดเลือดขาว

1.1 Permeability ของน้ำ, solute และ macromolecule⁽³⁾

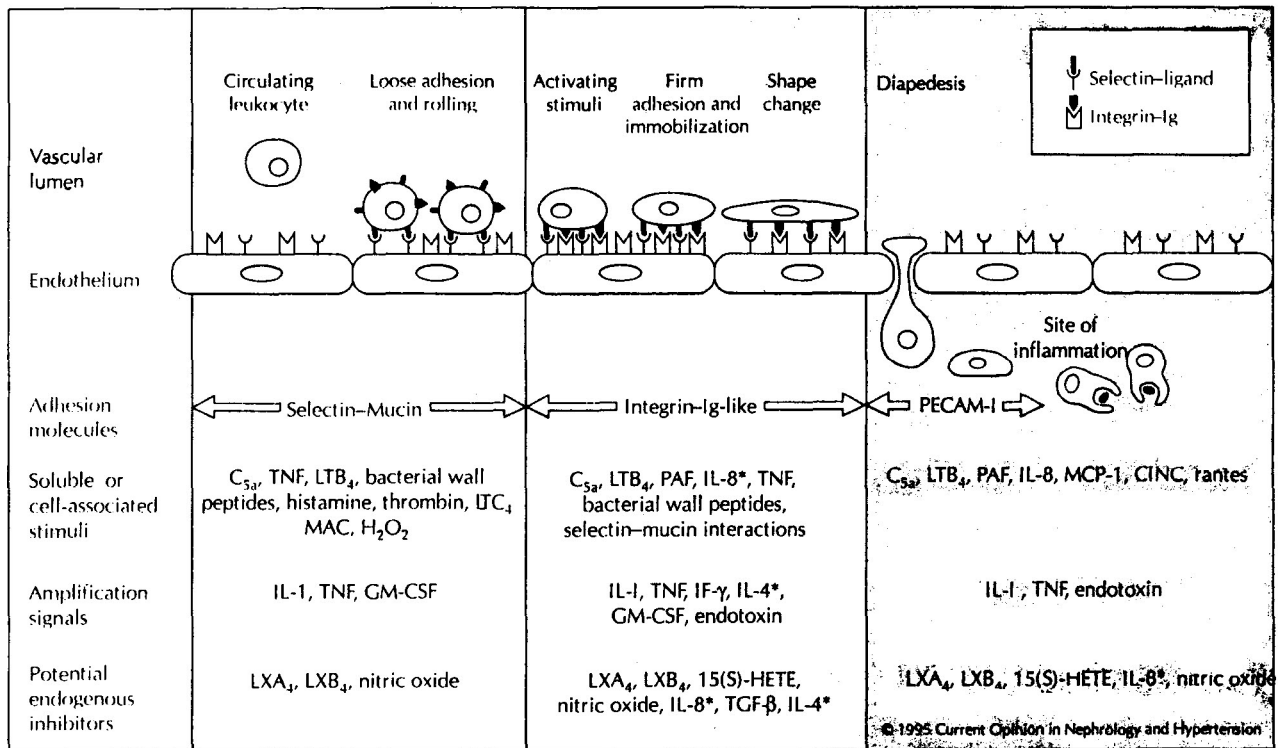
การศึกษาทางสรีรวิทยาพบว่า มีรู (pore) สองชนิด คือ น้ำและสารที่มีขนาดรัศมี (effective radius) ของโมเลกุลน้อยกว่า 10 นาโนเมตรจะเคลื่อนที่ผ่านระบบ

รูขนาดเล็ก (small pore system) ส่วนสารที่มีขนาดรัศมีของโมเลกุลมากกว่า 10 นาโนเมตร จะเคลื่อนที่ผ่านระบบรูขนาดใหญ่ (large pore system) เชื่อว่ารูเหล่านี้อยู่ที่ intercellular junctions พบว่าระยะระหว่างรอยต่อเซลล์ (junctional sieve) เมื่อมีสิ่งกระตุ้นให้ endothelium มีการหดตัวจะทำให้ช่องว่างระหว่างรอยต่อเซลล์เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ permeability เพิ่มขึ้น การศึกษาทาง ultrastructure พบว่ายังมีการขนส่งผ่านเซลล์ (transcellular) endothelium โดยอาศัย transcytotic vesicles และ channel ผ่าน endothelial plasmalemma พบว่า histamine, thrombin, bradykinin, platelet-activating factor (PAF) และ hydrogen peroxide⁽⁴⁾ ซึ่งทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ intracellular Ca^{2+} และ protein kinase C activity จะทำให้ endothelium หดตัว ทำให้ permeability เพิ่มขึ้น และมีการเรียงตัวใหม่ของ cytoskeletal actin filaments ในทางตรงข้ามหากมีการเพิ่มขึ้นของ cyclic adenosine⁽⁵⁾-monophosphate (cAMP) หรือ guanosine 3,5'-monophosphate (GMP) จะทำให้ endothelium คลายตัว (permeability ลดลง)⁽⁵⁾ ในขณะเดียวกัน endothelium สามารถคัดหลั่งสารออกมาควบคุม permeability เอง เช่น สร้าง endothelin-1 (ET-1) จะเพิ่ม vascular permeability โดยกลไกผ่าน ETA receptor ในขณะที่ prostaglandin E_1 (PGE-1) ซึ่งจะเพิ่ม cAMP จะออกฤทธิ์ต่อต้านฤทธิ์ของ histamine⁽⁶⁾

1.2 Transmigration ของ leukocyte^(2,7,8)

พบว่า leukocyte สามารถเกาะติดกับ endothelium โดย adhesion molecule และเกิด transmigration ผ่านผนังหลอดเลือด กระบวนการเหล่านี้มีความสำคัญในขบวนการสรีรวิทยาปกติ ได้แก่ inflammation และกระบวนการสรีรวิทยาที่ผิดปกติ ได้แก่ atherosclerosis

กระบวนการ transmigration ของ leukocyte ผ่านผนังเส้นเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อเกิดโดยกระบวนการย่อยๆ 3 ขั้นตอน คือ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1. ขบวนการ Transmigration ของ leukocyte จาก vascular lumen ผ่าน endothelium เข้าสู่เนื้อเยื่อ

1. Tethering (การดึง leukocyte เข้าหา endothelium) และ Rolling

2. Leukocyte immobilization

3. Diapedesis

กระบวนการย่อยๆ ทั้ง 3 ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นโดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง adhesion molecule ของ endothelium และของ leukocyte⁽⁹⁻¹³⁾

2. Endothelium เป็นเซลล์เป้าหมาย (Target cells) สำหรับ humoral และ cellular immune responses^(14,15)

การศึกษาพบว่า endothelium ในคนสามารถแสดงออกถึง major histocompatibility complex (MHC) antigen class I ในภาวะปกติ และถ้าถูก

กระตุ้นจะสามารถแสดงออก MHC class II ได้ด้วย ปัจจุบันได้มีการค้นพบ autoantibodies ต่อ endothelium เรียกว่า antiendothelial cell antibodies หรือ AECAS ในโรคต่างๆ หลายชนิด พบว่า AECAS มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคต่างๆ เหล่านี้

3. Endothelium ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสารต่าง ๆ^(1,2)

endothelium สามารถเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ หลายชนิด จากสาร inactive ไปเป็นสาร active เช่น เปลี่ยน Angiotensin I ไปเป็น Angiotensin II หรือ เปลี่ยนจากสาร active ไปเป็นสาร inactive เช่น เปลี่ยน Bradykinin ไปเป็น inactive peptide

4. Endothelium ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม tone ของหลอดเลือด^(1,2)

endothelium สามารถสร้างสารกลุ่ม vaso-dilators⁽¹⁶⁾ หรือ endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ได้แก่ Nitric oxide (NO), Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF), Prostacyclin (PGI₂) และกลุ่ม vasoconstrictor หรือ Endothelium-Derived Contracting Factors (EDCF) ได้แก่ endothelin (ET), platelet derived growth factor (PDGF) และสาร arachidonic acid บางชนิด ได้แก่ thromboxane A₂ (TxA₂), PGH₂) endothelium ยังมีบทบาทนำพาสารบางชนิด ซึ่งมีผลต่อความตึงของเส้นเลือดเข้าภายในเซลล์ endothelium และเกิดขบวนการ metabolism ได้แก่ norepinephrine, prostaglandins ชนิดต่างๆ, serotonin จาก platelet นอกจากนี้ membrane ของ endothelium ยังประกอบด้วย converting enzyme ซึ่งจะเปลี่ยน angiotensin I (AI) ไปเป็น angiotensin II (AII) converting enzyme ยังทำลาย kinin โดยเฉพาะ bradykinin ซึ่งมีฤทธิ์เป็น vasodilator ให้กลายเป็น inactive peptide

พบว่ามีสิ่งกระตุ้นต่างๆ มากมายในการกระตุ้น endothelium ให้สร้าง EDRF มี EDRF อย่างน้อย 3 ชนิดคือ Nitric oxide, EDHF และ PGI₂

NO^(1,16-20)

NO ถูกสร้างขึ้นโดยขบวนการ "five-electron oxidation" ส่วน guanidino group ของ amino acid ชื่อ L-arginine การเปลี่ยนแปลงจาก L-arginine ไปเป็น L-citrulline และ NO อาศัยกลุ่มเอ็นไซม์ที่มีชื่อว่า NO synthases (NOS) ซึ่งอยู่ใน cytoplasm นอกจากนี้ยังอาศัยสารอื่นๆ เป็นปัจจัยร่วม ได้แก่ Flavin Adenine Dinucleotide (FAD), Flavin Mononucleotide (FMN) และ Tetrahydrobiopterin (H₄ Biopterin) L-citrulline สามารถถูกเปลี่ยนกลับไปเป็น

arginine ที่ไต ส่วนหลักคือ proximal tubule โดยอาศัยเอ็นไซม์ argininosuccinic acid synthetase และ argininosuccinate lyase arginine (เรียกรวมการเกิดการหมุนเวียนของ NO และ citrulline นี้ว่า Citrulline-NO cycle)

พบว่ามี NOS อย่างน้อย 3 ชนิด⁽²¹⁻²²⁾ คือ NOS I (Brain NOS, bNOS, nNOS หรือ ncNOS), NOS II (iNOS, mNOS, mac NOS), NOS III (Endothelial NOS, eNOS, ecNOS) NOS มีโครงสร้างคล้าย cytochrome P₄₅₀ สามารถแบ่ง NOS ออกเป็น 2 ชนิดตามระยะเวลาในการหลั่ง NO ภายหลัง NOS ถูกกระตุ้น ได้แก่ Constitutive NOS (cNOS) และ Inducible NOS (iNOS) cNOS จะตอบสนองอย่างรวดเร็วโดยสิ่งกระตุ้นๆ ที่สำคัญ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของอัตราการไหลของเลือด หรือ "shear stress", โดย endogenous agonists เช่น endothelin, glutamate, bradykinin โดยกลไก Ca²⁺ signaling cNOS ได้แก่ NOS I และ NOS II ระดับของ NO ที่ถูกสร้างโดยการกระตุ้น โดย cNOS มีค่าในช่วง 20-80 nmol/ลิตร ส่วน iNOS จะตอบสนองในเวลาที่ช้ากว่าต่อสิ่งกระตุ้นซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ cytokines ต่างๆ มักใช้เวลาในหลายชั่วโมงเนื่องจากต้องผ่านขบวนการ กระตุ้นยีนให้สร้าง mRNA transcription การสร้าง NO จะมีปริมาณมากในช่วงไม่กี่โมล การสร้าง NO โดย iNOS ไม่ต้องอาศัย Ca²⁺ signaling

NO ที่เกิดขึ้นจาก cNOS มีบทบาทในเรื่อง cell-to-cell signalling โดยออกฤทธิ์ผ่าน cGMP ส่วน NO ที่เกิดขึ้นจาก iNOS มีบทบาทในเรื่อง cytotoxicity จึงมีบทบาทในแง่ Host Defense Mechanism

NO ออกฤทธิ์ในการควบคุม tone ของเส้นเลือดโดยการทำให้เกิด vasodilatation NO กระตุ้นการทำงานของ guanylate cyclase ให้เปลี่ยน GTP ไปเป็น cGMP ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งส่วนที่ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด นอกจากนี้ NO ยังออกฤทธิ์กระตุ้น

cyclooxygenase (COX) ให้อยู่ในสภาพที่ทำงานได้ ซึ่งจะกระตุ้นการสร้าง PGE_2 , PGI_2 ทำให้เกิด vasodilatation มากขึ้น

Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF)^(1,16)

การศึกษาทาง electrophysiology พบว่า acetylcholine ทำให้เส้นเลือดบางแห่งเกิดภาวะ vasodilatation โดยทำให้ vascular smooth muscle cells เกิดภาวะ hyperpolarization เนื่องจาก NO และ PGI_2 มิได้ออกฤทธิ์ผ่านกลไกภาวะดังกล่าว พบว่ามีสารถูกหลั่งออกจาก endothelium เรียกสารนี้ว่า endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)

บทบาทของ EDHF ในการเกิด endothelium-depletion vasodilatation แปรเปลี่ยนระหว่างเส้นเลือดแดงชนิดต่างๆ และระหว่างเส้นเลือดขนาดใหญ่ (NO มีบทบาทเด่นกว่า) กับเส้นเลือดขนาดเล็ก (EDHF มีบทบาทเด่นกว่า) เชื่อว่า EDHF ออกฤทธิ์โดยการเปิด K-channel การออกฤทธิ์นี้ไม่ขึ้นต่อ ATP ฤทธิ์ของ EDHF ไม่ถูกยับยั้งโดย glibenclamide ซึ่งยับยั้งการทำงานของ ATP-dependent channel แต่จะถูกยับยั้งโดย Na-K-ATPase

การศึกษาพบว่าตัวรับการกระตุ้นที่ endothelial cell membrane ในการหลั่ง EDHF คือ muscarinic M_1 subgroup มีความแตกต่างจากในการหลั่ง NO ซึ่งใช้ M_2 หรือ M_3 subgroup

การหลั่ง EDHF จะถูกควบคุมด้วยระดับของ cytosolic calcium เช่นกัน และถูกยับยั้งโดย calmodulin antagonist ยังไม่ทราบว่าอะไรคือสารที่แท้จริงของ EDHF มีการศึกษาหลายรายงานบ่งชี้ว่า EDHF น่าจะเป็น metabolite บางชนิดของ cytochrome P_{450}

Prostacyclin (PGI_2)^(1,2,23) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจาก arachidonic acid ใน cyclooxygenase pathway ภายใน endothelium การสร้าง PGI_2 ในภาวะปกติมีลักษณะ substrate-limited ถูกกระตุ้นโดยสารกระตุ้น

หลายชนิดรวมทั้ง histamine และ serotonin ซึ่งกระตุ้นการหลั่ง arachidonic acid จาก membrane phospholipid

PGI_2 ทำให้เกิด vasodilator โดยกระตุ้น adenylyl cyclase ทำให้มีการสร้าง cyclic AMP เพิ่มขึ้น พบว่า cyclic GMP ซึ่งถูกสร้างขณะมีการหลั่ง NO จะทำหน้าที่ยับยั้ง phosphodiesterase ซึ่งออกฤทธิ์ทำลาย cyclic AMP ทำให้ cyclic AMP เพิ่มขึ้นในอีกทางหนึ่งด้วย

แม้ PGI_2 ใน pharmacologic dose จะออกฤทธิ์เป็น vasodilator ที่แรงก็ตาม พบว่า PGI_2 ในภาวะปกติมีบทบาทน้อยในการเกิด vasodilatation เมื่อเทียบกับ NO

ในทางตรงข้ามกับสิ่งที่เกิดกับเส้นเลือดแดง เมื่อเส้นเลือดดำพบกับ arachidonic acid จากภายนอก ร่างกายจะเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดดำ ซึ่งต้องอาศัย endothelium การหดตัวนี้ถูกยับยั้งโดย indomethacin ซึ่งออกฤทธิ์เป็น cyclooxygenase inhibitor เชื่อว่าสารจาก cyclooxygenase pathway ที่ทำให้เกิดการหดตัว ได้แก่ thromboxane A_2 , prostaglandin H_2 , และ superoxide anion (O_2^-) ออกฤทธิ์ทำให้ NO ไม่ทำงาน

Endothelin (ET)^(1,2,16,24) endothelium ผลิต ET-1 เป็นส่วนใหญ่ พบว่าการแสดงออกของ ET-1 ถูกควบคุมในระดับ gene transcription โดยถูกเหนี่ยวนำให้สร้างโดยสิ่งกระตุ้นต่างๆ เป็น thrombin, epinephrine, interleukin-1, angiotensin-II, arginine vasopressin (AVP), และ transforming growth factor β (TGF- β) endothelium มี endothelin-converting enzyme ซึ่งออกฤทธิ์ในการเปลี่ยน preproendothelin ไปเป็น endothelin

ET-1 จะรวมตัวอย่างจำเพาะต่อ ET_A และ ET_B receptor บน vascular smooth muscle cell และส่งผลกระตุ้นทางอ้อมต่อ voltage-sensitive Ca^{2+}

channel ทำให้เกิดภาวะ vasoconstriction อย่างต่อเนื่อง ในภาวะปกติตรวจพบ ET-1 ในกระแสโลหิตในระดับต่ำ บ่งชี้ว่า ET-1 ทำหน้าที่เป็น vasoconstrictor เฉพาะที่เท่านั้น

พบว่า endothelium ยังสามารถสร้าง Platelet-derived growth factor (PDGF) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น vasoconstrictor⁽²⁵⁾ จากการศึกษาพบว่า inflammatory mediators เช่น thrombin, cytokines (TNF และ IL-1) สามารถกระตุ้นการสร้างและหลั่ง PDGF จาก endothelium

5. Endothelium ทำหน้าที่ควบคุมขบวนการ coagulation และ fibrinolysis⁽²⁾

พบว่า endothelium ทำหน้าที่คงสภาพเลือดให้เป็นของเหลวอยู่ตลอดเวลา ฤทธิ์ดังกล่าวเกิดโดยฤทธิ์ของ endothelium ต่อ platelets, coagulation cascade, ระบบ fibrinolysis

5.1 บทบาทของ endothelium ต่อ platelet
endothelium ผลิตสารหลายชนิด ซึ่งยับยั้งการกระตุ้น platelet NO กระตุ้น platelet guanylate cyclase ออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการ degranulation และ aggregation ของ platelet^(26,27) พบว่า PGI₂ สามารถยับยั้งขบวนการทั้งสองเช่นกัน โดยออกฤทธิ์ผ่าน cyclic AMP PGI₂ ออกฤทธิ์เสริมกับ NO ผิวของ endothelium สร้าง thrombomodulin⁽²⁸⁾ ซึ่งเป็น endothelial cell-surface glycoprotein thrombomodulin จะรวมกับ thrombin ซึ่งเป็น platelet activator ที่แรงมาก นอกจากนี้ ecto-adenosine diphosphatase⁽²⁹⁾ บนผิวของ endothelium สามารถทำลาย adenosine diphosphate กลายเป็น inactive metabolites

ถึงแม้ activated platelet จะไม่เกาะติด (adherence) กับ endothelium ปกติในภาวะปกติก็ตาม พบว่าการให้ indomethacin เพื่อยับยั้ง cyclooxygenase หรือการให้ L-NMMA เพื่อยับยั้ง nitric oxide

synthase จะทำให้การเกาะติดของ platelet ต่อ endothelium มีมากขึ้น เมื่อมีการ กระตุ้น platelet จะมีการหลั่ง histamine, serotonin และ ADP จาก platelet granules สารเหล่านี้จะออกฤทธิ์กระตุ้น endothelium ให้สร้าง NO และ PGI₂

Activated platelet จะหลั่งสารต่างๆ ได้แก่ transforming growth factor- β (TGF- β), histamine และ serotonin ส่วนเม็ดเลือดขาวจะหลั่งสาร tumor necrosis factor (TNF) และ interleukin-1 (IL-1) สารเหล่านี้จะกระตุ้น endothelium ให้สร้าง von Willebrand Factor (vWF) ซึ่งเป็น multimeric extracellular glycoprotein vWF จะรวมกับ platelet membrane glycoprotein GPIIb/IIIa และ GPIb กลายเป็น matrix สำหรับ platelet aggregation นอกจากนี้ยังพบว่า การกระตุ้น endothelium จะทำให้มีการหลั่ง platelet activating factor (PAF) ซึ่งกระตุ้น platelet aggregation โดย PAF รวมกับ receptor และทำให้ cytosolic Ca²⁺ มีระดับเพิ่มขึ้น

5.2 บทบาทของ endothelium ต่อ coagulation
endothelium ออกฤทธิ์ต้านหลักโดยการยับยั้ง coagulation cascade พบว่า heparin และ related mucopolysaccharide ของผิวของ endothelium ทำหน้าที่เป็น cofactors สำหรับ antithrombin III⁽³⁰⁾ ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ thrombin (factor II), coagulation factor IXa และ Xa⁽³¹⁾ พบว่า thrombomodulin (เป็น glycoprotein บนผิวของ endothelium) จะจับกับ thrombin และกระตุ้น protein C ให้จับกับ protein S บนผิวเซลล์ endothelium สารประกอบดังกล่าวจะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ factor Va และ VIIIa

5.3 บทบาทของ endothelium และ fibrinolysis
ในภาวะปกติ fibrin จะถูกทำลายโดย serine protease plasmin ซึ่งถูกสร้างโดยการย่อยสลาย plasminogen ซึ่งเป็น circulating proenzyme พบว่า plasminogen

จะถูกกระตุ้นโดย tissue plasminogen activator⁽³²⁾ (tPA) ซึ่งเป็น serine protease ที่มีขนาด Mr 70,000 ซึ่งถูกสร้างและหลั่งโดย endothelium พบว่าระดับของ active tPA เป็นขั้นตอนสำคัญที่สุดถือว่าเป็น rate-limiting step ในการเริ่มต้นการทำงานของระบบ fibrinolysis

endothelium จะควบคุม active tPA โดยกลไก 3 ประการ⁽³³⁾ ได้แก่

1) ควบคุมการสร้างและการหลั่ง tPA จาก vascular endothelium พบว่าการสร้าง tPA ถูกควบคุมที่ระดับ gene transcription การแสดงออกของ tPA gene และอัตราการหลั่ง tPA ของ endothelium ถูกกระตุ้นโดย thrombin, fibroblast growth factor, histamine, และ sheer stress แต่จะถูกยับยั้งโดย transforming growth factor- β

2) ควบคุมการจับตัวของ tPA กับตัวรับจำเพาะบนผิวเซลล์ endothelium

3) ควบคุมการสร้างตัวยับยั้งจำเพาะต่อ plasminogen-activator

tPA กระตุ้น plasminogen ซ้ำมากในสารละลาย มีค่า Km 16-65 μ M ซึ่งมีค่าสูงกว่าระดับของ plasminogen ในกระแสเลือดมาก (2 μ M) ขนาดปกติ, อยู่ระดับเดียวกัน เมื่อมี fibrin, thrombospondin, หรือตัวรับจำเพาะบนผิวของ endothelium จะทำให้การรวมตัวของ tPA และ plasminogen เกิดขึ้นที่ค่า Km ต่ำลง (0.16 μ M) และมีอัตราการกระตุ้น plasminogen เพิ่มขึ้นหลายเท่า พบว่าตัวรับจำเพาะบนผิวของ endothelium มีค่า affinity ต่อ tPA สูงมาก (ค่า Kd = 9×10^{-9} M) ตัวรับนี้มีขนาด Mr 40,000 เป็น intrinsic membrane protein มีปริมาณ 8×10^5 ตำแหน่ง/เซลล์ จะรวมกับ tPA ในลักษณะอิสระทำให้เกิด cell-surface fibrinolytic activity ที่มีประสิทธิภาพ พบว่า tPA ที่จับกับตัวรับจะทนทานต่อสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งจำเพาะต่อ tPA เป็นการบ่งชี้ว่า

tPA ซึ่งอยู่ที่ผิวของ endothelium ที่ปกติจะออกฤทธิ์ antithrombosis โดยการกระตุ้นให้เกิดขบวนการ fibrinolysis รอบๆ เซลล์

เมื่อ tPA อยู่ในกระแสโลหิตจะถูกยับยั้งโดยตัวยับยั้งจำเพาะ ได้แก่ plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (ซึ่งเป็น serine protease inhibitor) หรือ serpin สารดังกล่าวถูกสร้างและคัดหลั่งโดย endothelium PAI-1 จะจับกับ tPA จนเหลือ tPA ที่ active เพียง 1-10% การแสดงออกของ PAI-1 gene และการหลั่งของ PAI จะถูกกระตุ้นโดย thrombin, TGF- β , TNF, IL-1 α และ bacterial endotoxin PAI-1 จะถูกเก็บสะสมใน α -granule ของ platelet และถูกหลั่งภายหลังมีการกระตุ้น platelet

6. Endothelium ควบคุม vascular smooth muscle cell proliferation

endothelium ผลิตสารหลายชนิด เช่น TGF- β , interferon- γ , heparin/heparan sulfate ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง smooth muscle cell proliferation^(34,35) (พบว่า NO ไม่มีฤทธิ์ดังกล่าว) vascular smooth muscle cells ซึ่งถูกเพาะเลี้ยง (culture) ร่วมกับ endothelium จะคงลักษณะหดตัว (contractile) มากกว่าจะเป็นลักษณะกำลังสังเคราะห์ (synthesis)⁽³⁶⁾ TGF- β ออกฤทธิ์ลดขบวนการ 3 H-thymidine incorporation การศึกษาพบว่า การขาด heparan sulfate (จากการที่ endothelium ถูกทำลายในบางภาวะผิดปกติ เช่น hypertension และ atherosclerosis) จะทำให้มี vascular smooth muscle proliferation เพิ่มขึ้น

ในขณะเดียวกัน endothelium ก็สังเคราะห์และสร้าง PDGF-A และ B, และ ET-1 ซึ่งเป็น smooth muscle cell mitogen ที่มีประสิทธิภาพมาก เชื่อว่าฤทธิ์ดังกล่าวของ endothelium เป็นฤทธิ์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีการทำลาย endothelium เฉพาะที่

โรคหรือภาวะความผิดปกติที่เกิดจากการทำงานผิดปกติของ endothelium

ในที่นี้จะกล่าวถึงความผิดปกติต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. Atherosclerosis
2. Hypertension
3. Inflammatory disorders
4. Preeclampsia
5. Diabetes
6. Acute Renal Failure
7. Chronic Renal Failure
8. โรคอื่นๆ

1. Atherosclerosis^(2,16)

พบว่าบุคคลที่มีภาวะ hypercholesterolemia จะไม่เกิด vasodilatation ในการตอบสนองต่อ acetyl choline เชื่อว่าเกิดจากการสร้าง NO ลดลง และมีการทำลาย NO เพิ่มขึ้น

การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า oxidized LDL ทำให้การหลั่ง NO ลดลง เชื่อว่าเกิดผ่านกลไก scavenger receptor (ถูกยับยั้งโดย dextran sulfate) เมื่อให้ arginine สามารถเอาชนะฤทธิ์ดังกล่าวของ NO ได้ บ่งชี้ว่า NO synthase ยังปกติ

oxidized LDL ยังทำให้การแสดงออกของ ET-1, VCAM-1 เพิ่มขึ้น เชื่อว่า VCAM-1 มีบทบาทสำคัญในการเกิด atherosclerosis ในระยะแรกเริ่ม เมื่อเกิด atherosclerosis ขึ้นแล้ว เส้นเลือดจะเกิด vasodilatation ในการตอบสนองต่อ NO ลดลง⁽⁴⁰⁾ เชื่อว่า NO จะลดการทำงานลงอย่างมากโดยฤทธิ์ของ superoxide ที่ถูกหลั่งจาก inflammatory cells และฤทธิ์ของ oxidized lipids ภายใน plaque⁽⁴¹⁾

พบว่าการสร้างสาร vasoconstrictor เช่น thromboxane เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่มี atherosclerosis⁽⁴²⁾ นอกจากนี้ acetyl choline และ serotonin ซึ่งออกฤทธิ์เป็น vasodilator ในภาวะปกติกลับออกฤทธิ์เป็น vasoconstrictor ในภาวะ advanced atherosclerosis⁽⁴³⁾

ตรวจพบการแสดงออกของ ICAM-1 และ VCAM-1 เพิ่มขึ้นใน atherosclerotic plaques พบว่า endothelium ของเส้นเลือดในพยาธิสภาพเหล่านี้ก็แสดง VCAM-1 และ PDGF-A chain เพิ่มขึ้น (ทำให้ smooth muscle cell มี proliferation เพิ่มขึ้น) endothelium มีความผิดปกติในการสร้าง extracellular matrix กล่าวคือ มีการสร้าง chondroitin และ dermatin sulfate เพิ่มขึ้น มีการสร้าง heparin/heparin sulfate ลดลง ผลจากการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะทำให้ anticoagulant activity ลดลง และมีการสูญเสียความสามารถเรื่อง antiproliferation ต่อ smooth muscle cells

2. Hypertension^(2,16,44,45)

เนื่องจากไตเป็นอวัยวะสำคัญในการควบคุม vascular tone และสมดุลของน้ำ และ Na⁺ จึงขอกล่าวถึงบทบาทของ endothelium และ endothelial products โดยเฉพาะระบบ NO ในไตก่อน

2.1 ระบบ NO ในไต^(16,46-48)

Nos ในไต พบ NOS I ใน macula densa และบางส่วนของ glomerular capsule (ในคน, หนู) พบ NOS II ใน preglomerular portion ของ afferent arteriole รวมทั้ง granular cells, ใน proximal tubule และ inner medullary collecting duct cells พบ NOS III ใน endothelium ของ renal arteriole

2.2 บทบาทของ NO ต่อสรีรวิทยาของไต⁽¹⁶⁾

2.2.1 ผลของ NO ต่อ glomerulus และ glomerular hemodynamics^(46,47)

การศึกษามบทบาทของ NO ต่อ glomerular hemodynamics โดยการให้ NOS inhibitor ขนาดต่ำ ซึ่งไม่มีผลต่อความดันโลหิต และการให้ NOS inhibitor ทาง renal artery พบว่าการหดตัวของหลอดเลือดฝอยในไตทั้ง afferent และ efferent arteriole ทำให้มีการลดลงของ glomerular blood flow นอกจากนั้น mesangial cell เกิดการหดตัวเช่นกัน ทำให้ ultra-filtration coefficient (Kf) ลดลง ส่วน GFR อาจไม่

เปลี่ยนแปลงมากนิตเพราะมีการเพิ่มของ glomerular capillary pressure ซดเซย มีความเชื่อโดยทั่วไปว่า NO มีบทบาทต่อ vascular tone ของ afferent arteriole มากกว่าของ efferent arteriole โดยเฉพาะใน superficial nephron โดย NO มีผลต่อ vascular tone ของ afferent arteriole และการหดตัวของ mesangial cell แม้ว่าในภาวะน้ำสมดุลย์ (Euvolemia) สำหรับ juxta-glomerular nephron การศึกษาพบว่า NO มีผลต่อ vascular tone ของเส้นเลือดทั้ง afferent และ efferent arteriole เท่ากัน

นอกจากนั้นยังพบว่า afferent arteriole ของ superficial glomeruli ไม่ไวต่อการกระตุ้นให้เส้นเลือดหดตัวด้วย angiotensin II (AII) เมื่อเปรียบเทียบกับ efferent arteriole อาจเป็นเพราะ AII ทำให้ afferent arteriole ของ superficial nephron หลั่ง NO ด้านฤทธิ์ของ AII ทำให้ GFR ไม่ลดลงมากในภาวะที่มี AII หลั่งมาก เช่น hypovolemia

2.2.2 ผลของ NO ต่อ tubulo-glomerular feedback⁽⁴⁶⁾

macula densa เป็นเซลล์ของ tubular cell ที่อยู่ระหว่างส่วนปลายของ thick ascending limb ของ Henle's loop และส่วนต้น distal tubule macula densa อยู่บริเวณ hilum ของ glomerulus ในหน่วยไตเดียวกันทำหน้าที่ควบคุม single nephron GFR โดยขบวนการที่เรียกว่า "Tubulo-glomerular feedback" (TGF) TGF หมายถึง ปรากฏการณ์มีการเปลี่ยนแปลงของ GFR สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ tubular flow กล่าวคือ มีการเพิ่มอัตราการไหลของสารน้ำสู่บริเวณ macula densa เช่น ในภาวะที่มีสารน้ำในร่างกายเกิน จะมีการหดตัวของ arteriole ทำให้ SNGFR ลดลง ป้องกันการสูญเสียสารน้ำ พบว่า afferent arteriole จะเกิด vasodilatation เพื่อทำให้ SNGFR ไม่ลดมากเกินไป จนทำให้ไตไม่สามารถขับสารน้ำส่วนที่เกินได้ พบว่า vasodilatation ที่เกิดขึ้น เกิดโดยอาศัยการ

ทำงานของ NO หลักฐานที่สนับสนุน คือ macula densa เป็นตำแหน่งที่มีระดับของ NOS มากที่สุดในไต พบว่าการรับประทาน NaCl ในปริมาณมากจะทำให้ curve ของ TGF เลื่อนไปทางขวา (เหมือนภาวะ salt-sensitive ส่วนการรับประทาน NaCl ในปริมาณน้อยจะทำให้ curve ของ TGF เลื่อนมาทางซ้าย การให้ NOS inhibitor มีผลทำให้ curve ของ TGF เลื่อนไปทางขวา ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบใน salt-sensitive hypertension

2.2.3 ผลของ NO ต่อ medullary blood flow^(48,49)

NO ในบริเวณ renal medulla ถูกสร้างโดย endothelial cell ของ vasa recta จากการตรวจวัดปริมาณของ cGMP (ซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นโดย NO) พบว่าไตส่วนนี้สร้าง NO มากกว่าส่วน cortex และถูกยับยั้งการสร้างด้วย NOS inhibitor ในปริมาณที่ต่ำกว่าการยับยั้งการสร้าง NO ใน cortex จะเห็นความสำคัญของ NO ต่อ medullary blood flow ได้จากการพบว่าทำให้ L-NAME ทำให้ medullary blood flow และ interstitial pressure ลดลง (ในขณะที่ cortical blood flow ไม่เปลี่ยนแปลง) ในกรณีนี้การขับ Na^+ และน้ำจะลดลงด้วยเช่นกัน เมื่อร่างกายไม่สามารถขับน้ำและเกลือที่เกินไป ผลที่ตามมาคือ ความดันโลหิตเพิ่มขึ้น จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่า medullary blood flow มีผลต่อการขับน้ำเกลือ รวมทั้งมีผลต่อความดันโลหิต

เมื่อร่างกายได้รับสารน้ำ และเกลือเพิ่มขึ้น ร่างกายจะขับน้ำและเกลือส่วนเกิน ทำให้ความดันโลหิตไม่เปลี่ยนแปลง เรียกความสัมพันธ์นี้ว่า "Pressure-natriuresis relationship"⁽⁴⁹⁾ ในกรณีที่ร่างกายมีความผิดปกติของการขับน้ำและเกลือส่วนเกิน ความสัมพันธ์จะเบี่ยงเบนไปทางขวาทำให้เกิดภาวะความดันโลหิตสูงดังกล่าว เชื่อว่าความผิดปกติของ NO อาจเป็นกลไกพื้นฐานของความผิดปกติในภาวะดังกล่าว

2.2.4 ผลของ NO ต่อ tubular function^(50,51)

เชื่อว่า NO ยับยั้งการดูดซึม Na^+ โดย tubular cell โดยตรง เพราะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณปัสสาวะและ Na^+ (ปรากฏการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความดันโลหิต, renal blood flow และ GFR) จากการศึกษากลไกการทำงานของ NO ใน cortical collecting duct ของหนู พบว่า NO ยับยั้งการดูดกลับของ Na^+ ในหลอดไตส่วนนี้⁽⁵⁰⁾ โดยผ่าน amiloride-sensitive Na^+ channels โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง Na-K-ATPase activity อย่างไรก็ตามพบว่า NO ออกฤทธิ์เพิ่ม Na^+ reabsorption ที่ proximal tubule โดยทำงานร่วมกับ Angiotensin II⁽⁵¹⁾

การให้ความสำคัญเกี่ยวกับบทบาทของความผิดปกติของ endothelium และ NO^(44,45) ในการเกิดความดันโลหิตสูงได้มาจากฤทธิ์ vasodilatation ของ NO มีความพยายามให้ arginine แก่ผู้ป่วยความดันโลหิตสูงเพื่อเป็นการกระตุ้น NOS activity พบว่าได้ผลดี ในทางทฤษฎีแล้วการให้ arginine ไม่สามารถเพิ่ม activity ของเอ็นไซม์ใน endothelium ได้ ระดับของ L-arginine ในเซลล์ endothelium มีค่า 0.8–2 mmol/ลิตร ในเซลล์ที่มีชีวิต และ 0.1–0.8 mmol/ลิตร ใน cultured cells ค่าดังกล่าวสูงกว่าค่า Michaelis constant (K_m เป็นความเข้มข้นของสารตั้งต้น (ในที่นี้หมายถึง arginine) ที่จุดที่ความเร็วของปฏิกิริยา (ในที่นี้หมายถึง ปฏิกิริยาการเปลี่ยน L-arginine ไปเป็น NO โดยอาศัย NOS) มีค่าครึ่งหนึ่งของความเร็วสูงสุด (V_{max}) K_m บ่งชี้ถึงความง่ายในการที่เอ็นไซม์หรือสารจะทำให้ปฏิกิริยาดำเนินไป ค่า K_m ของปฏิกิริยา arginine ไปเป็น NO เท่ากับ 2.9 μmol /ลิตร ซึ่งต่ำกว่าระดับของ L-arginine หลายร้อยเท่า ดังนั้นระดับของ L-arginine จึงไม่น่าเป็นปัจจัย “rate-limiting” นอกจากนั้น endothelium ยังมีความสามารถในการเปลี่ยน L-citrulline ไปเป็น L-arginine ทำให้รักษาระดับ L-arginine ให้คงที่ได้ การศึกษาใน cell culture,

สัตว์ทดลองและคนบ่งชี้ว่าการลดลงของ intracellular NG จะทำให้การสร้าง NO ลดลง ส่วนการเพิ่มระดับ L-arginine ในซีรัมจากค่าปกติ 0.1 mmol/ลิตร จะเพิ่มการสร้าง NO การให้ L-arginine จะช่วยแก้ไขภาวะความผิดปกติของขบวนการ endothelium-dependent vasodilatation ในการตอบสนองต่อ acetylcholine ในสัตว์และคนที่มี hypercholesterolemia เรียกปรากฏการณ์ที่เซลล์ตอบสนองต่อการให้ L-arginine แม้มี L-arginine ในเซลล์ในปริมาณมากเกินไปพอที่ว่า “arginine paradox”⁽⁵²⁾ เชื่อว่ากลไกการออกฤทธิ์เกิดจากมีการสะสมของ endogenous methyl-arginines (เช่น L-NMMA และ dimethylarginines) ซึ่งจะแย่งที่กับ arginine และยับยั้ง NOS ทำให้ L-arginine กลับกลายเป็น “rate limiting” ของการสร้าง NO ปริมาณของ L-arginine ที่สูงมากอาจช่วยลดความดันโลหิต, ช่วยเปลี่ยนแปลงระบบหัวใจหลอดเลือด โดยกลไกไม่จำเพาะต่อฮอโมนและเอ็นไซม์ และผ่าน angiotensin converting enzyme

ในที่นี้จะขอนำเสนอข้อมูลบทบาทของ NO ต่อการเกิดความดันโลหิตสูงจากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในคน

ก. การศึกษาในสัตว์ทดลอง เป็นการศึกษาที่เป็นลักษณะ chronic experimental NO deficiency^(44,53,54) ภาวะ nitric oxide inhibition (NOI) บางส่วนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำให้เกิดภาวะ moderate hypertension, renal vasoconstriction, การลดลงของค่า glomerular capillary ultrafiltration coefficient (เกิดโดย mesangial cell constriction) และ glomerular blood pressure เพิ่มขึ้น (ทำให้เกิด proteinuria) และภาวะ focal and segmental glomerular sclerosis ภาวะ NOI อย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 4–6 อาทิตย์ ทำให้เกิด malignant hypertension ร่วมกับการทำลายโครงสร้างของ artery, arteriole และ glomerulus พบว่าระดับ systemic blood pressure และ glomerular

blood pressure ที่เพิ่มขึ้นแปรผันตามความรุนแรงของภาวะ NOI เชื่อว่าเป็นกลไกในการที่ภาวะ NOI เป็นเวลานาน เพิ่มการทำลาย glomerulus ในหนูที่มีปริมาณเนื้อไตลดลง พบว่าภาวะ NOI ยังทำให้เกิดภาวะ atherosclerosis, ทำให้เกิดภาวะ mesangial และ vascular smooth muscle expansion, เกิดภาวะ overproduction ของ extracellular matrix ทำให้เกิดภาวะ thrombogenesis (ทำให้เกิด intravascular coagulation) ภาวะเหล่านี้ส่งผลทำอันตราย glomerulus

พบว่าความดันโลหิตสูงที่เกิดจาก NOI เป็นเวลานานจะไม่ทำให้เกิดภาวะ cardiac hypertrophy ยกเว้นมีภาวะ renal nephroangiosclerosis และมีระดับ plasma renin activity เพิ่มขึ้น

ตรวจพบลักษณะที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ สองในสามหนูที่มีความดันโลหิตสูงจากภาวะ NOI จะมีภาวะ asymmetric paralysis (มีอาการเด่นที่ anterior limb) การตรวจทางพยาธิสภาพพบภาวะ infarction ของ spinal cord อาจพบภาวะ cerebral infarction มักตรวจพบภาวะ hypertrophy ของ spinal cord arteries

ภาวะ NOI อย่างเรื้อรังจะเพิ่ม vascular tone และความดันโลหิตโดยการลดระดับ cGMP ระดับความดัน systolic จะแปรผกผันกับ cGMP ในผนังของ aorta แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ cGMP ในพลาสมาและปัสสาวะ ความดันโลหิตที่สูงขึ้นยังอาจเกิดจากการลดการออกฤทธิ์ hyperpolarization ของ NO ต่อ K^+ channel

การให้ L-arginine (NO substrate) ในภาวะ NOI เป็นเวลานานน้อยกว่า 1 อาทิตย์ สามารถแก้ไขภาวะความดันโลหิตสูง และ renal vasoconstriction มีผลเพียงบางส่วนในภาวะ NOI นานกว่า 1 สัปดาห์ และไม่ผลต่อความดันโลหิตที่สูงเลยในภาวะ NOI นานกว่า 4-5 สัปดาห์ แม้จะมีภาวะ renal vasodilatation ปกติก็ตาม ภาวะ NOI นานกว่า 14 สัปดาห์ จะทำให้เกิดภาวะ persistent hypertension พบว่ากลไกอื่นที่มี

ผลต่อการดำรงอยู่ของความดันโลหิตสูง ได้แก่ การเพิ่ม central sympathetic activity, การลดความไวของ baroreceptor reflex ยังไม่ทราบบทบาทของระบบ renin-angiotensin ในภาวะ NOI การยับยั้ง angiotensin II (AII) อย่างฉับพลันมีผลน้อยมากต่อความดันโลหิต หรือ renal vascular resistance ส่วนการยับยั้ง AII อย่างยาวนานจะช่วยลดความดันโลหิตและความผิดปกติของไต ยังไม่สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างภาวะ NOI อย่างเรื้อรังกับระดับของ plasma renin activity ภาวะ NOI จะทำให้เส้นเลือดเพิ่มความไวต่อสาร vasoconstrictor ต่างๆ รวมทั้ง AII การให้สารยับยั้ง AII ร่วมกับ α -adrenergic blocker (ลดการทำงานของ sympathetic nervous system) จะทำให้ความดันโลหิตลดลงเป็นอย่างมาก(55)

ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับ endothelin มากนัก ในภาวะ NOI การศึกษาเบื้องต้นพบว่าการยับยั้ง endothelin อย่างยาวนานมีผลเพียงเล็กน้อยต่อความดันโลหิตในภาวะ NOI อย่างเรื้อรัง(56)

เนื่องจาก NO ทำหน้าที่เป็น natriuretic autacoid (โดยกระตุ้น pressure-natriuresis) หนูปกติที่กินเกลือเป็นปริมาณมากจะกระตุ้นให้มีการสร้าง NO สูงขึ้นเฉพาะในไต(57-60) หนูชนิด salt sensitive Dahl ที่กินเกลือปริมาณมาก และอยู่ในภาวะ NOI จะมีความดันโลหิตสูงซึ่งแก้ไขได้โดยการให้ arginine ภาวะ NOI อย่างเรื้อรังจะทำให้ภาวะ volume dependent hypertension อย่างไรก็ตามภาวะ NOI อย่างเรื้อรังและสมบูรณ์จะเกิดความดันโลหิตสูงแม้อยู่ในภาวะ volume depletion ก็ตาม

พบว่าการยับยั้ง eNOS มีความสำคัญที่สุดในภาวะ NOI ในการทำให้เกิดความดันโลหิตสูง(61) พบว่า bNOS มีบทบาทน้อยกว่ามาก การศึกษาบางรายงานบ่งชี้ว่า bNOS อาจทำให้ความดันโลหิตสูง ยังไม่ทราบบทบาทของ iNOS ในการเกิดความดันโลหิตสูง ตรวจพบ iNOS ได้ตามปกติใน afferent arteriole และ

kidney tubule epithelium นอกจากนี้ยีนของ iNOS จะอยู่คู่กับยีนของความดันโลหิตในหนูชนิด Dahl salt-sensitive อย่างไรก็ตามการยับยั้ง iNOS อย่างเรื้อรังในหนูที่กินเกลือตามปกติไม่มีผลต่อความดันโลหิต และ renal hemodynamics

การศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างพบว่า ภาวะ NOI มากกว่า 2 สัปดาห์ ทำให้เกิดการหนาตัวของชั้น media และมีการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างผนังเส้นเลือดต่อช่อง (lumen) เส้นเลือดโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง distensibility พบภาวะ vascular hypertrophy ได้ในภาวะ NOI ที่มีความรุนแรงทุกระดับ (บ่งชี้ว่ามีปัจจัยอื่นๆ เป็นกลไกในการเกิด) เมื่อมีการทำลายเส้นเลือดของร่างกาย, renal arteriole และ glomerulus อย่างรุนแรงจะทำให้ภาวะความดันโลหิตสูงนั้นเลวลงไปอีก

ในทางตรงข้ามกับหนูที่มีภาวะ NOI พบว่าหนูชนิด spontaneous hypertensive rat (SHR) มักจะมีโอกาสภาวะ cerebral infarction ได้บ่อย⁽⁴⁵⁾ (เหมือนในคน) หนูเหล่านี้มีระบบ L-arginine-NO-cGMP ปกติ อย่างไรก็ตามเมื่อทำให้เกิดภาวะ NOI จะทำให้ความดันโลหิตสูงมากขึ้น ร่วมกับอัตราการตายมากขึ้น

อย่างไรก็ตามภาวะ endothelium-dependent relaxation ในหนูชนิด SHR มักจะผิดปกติในการตอบสนองต่อ agonist ลดลง เช่น การตอบสนองต่อ acetylcholine ลดลงอย่างมาก^(45,46) (นอกจากนี้ยังพบว่า aorta ของ SHR ยังตอบสนองต่อ acetylcholine ในลักษณะที่ทำให้เกิด endothelium-dependent contraction ซึ่งเกิดขึ้นโดย prostaglandin H₂ บ่งชี้ว่า NO ทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดหรือ scavenger ต่อ EDCF) การให้ L-arginine ไม่ช่วยให้การตอบสนองของเส้นเลือดต่อ acetyl choline ดีขึ้น แสดงว่าความผิดปกติมีได้อยู่ที่มีข้อจำกัดของปริมาณสารตั้งต้น (ดังที่เกิดในภาวะ atherosclerosis) ในขณะที่การตอบสนองต่อ thrombin ปกติ ส่วนการตอบสนองต่อ histamine จะเพิ่มขึ้น

การศึกษายังพบว่า superoxide radicals ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง NO อาจมีบทบาทในการเกิด hypertension ใน SHR

การศึกษาในหนูที่มีความดันโลหิตสูงชนิด deoxycorticosterone acetate salt model⁽⁶²⁾ (unilateral nephrectomy ร่วมกับการให้ deoxycorticosterone acetate และการให้เกลือปริมาณสูงเกิน) พบว่าหนูมีภาวะ cardiac hypertrophy ในการตอบสนองต่อทั้ง pressure และ volume overload เส้นเลือดมีการเพิ่มความไวต่อ vasoconstrictor และลดความไวต่อ vasodilators พบว่า endothelium มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิด vasodilatation โดยทำหน้าที่เป็น counter regulation การทำลาย endothelium หรือ NO จะทำให้เกิด vasoconstriction

การศึกษาคความดันโลหิตสูงชนิด renovascular hypertension พบว่า การสร้าง NO อยู่ในเกณฑ์ปกติ การตอบสนองของขบวนการ endothelium-dependent relaxation ต่อ acetyl choline มีความผิดปกติเพียงเล็กน้อย การศึกษาในภาวะ intrarenal aortic stenoses (ซึ่งมีลักษณะเหมือน 2-kidney model of renovascular hypertension) พบการผลิตของ endothelium-derived constricting factor เพิ่มขึ้นในการตอบสนองต่อ angiotensin II สารดังกล่าวมีลักษณะเหมือน PGH₂

ข. การศึกษาในคน^(45,46)

การเกิดภาวะ NOI เฉพาะที่ที่ brachial artery ทำให้อัตราการไหลของเลือดเส้นเลือดแดงในแขนส่วนต้นลดลง บ่งชี้ว่าความต้านทานของเส้นเลือดอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างต่อเนื่องของ NO การเกิดภาวะ NOI ใน superficial vein ไม่มีผลต่อ tone ของเส้นเลือดดำ การเกิดภาวะ systemic NOI ทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้นในคนปกติ มีการเพิ่มขึ้นของ peripheral และ pulmonary vascular resistance, cardiac output ลดลง แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ venous pressure ส่วน sympathetic nerve activity ลดลง การศึกษาพบว่า

eNOS ในคนมีความสำคัญในการควบคุม tone พื้นฐานของเส้นเลือด, ในการกำหนดจุด “set point” เพื่อต้านการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงที่เกิดจากการทำงานของ sympathetic nervous system และ renin-angiotensin system⁽⁶¹⁾ ดังนั้น endothelium จึงทำหน้าที่เป็น baroreceptor organ

NO ถูกสร้างเพิ่มขึ้นการกระตุ้นโดย agonist (acetylcholine bradykinin หรือ substance P), hormone (estrogen, insulin), การตั้งครรภ์ (เชื่อว่าเกิดจากการกระตุ้นของ estrogen), การเพิ่มขึ้นของ shear stress NO ที่ถูกสร้างเพิ่มขึ้นนี้จะทำให้เกิดภาวะ vasodilatation ในเส้นเลือดดำและแดง

พบว่า NO มีบทบาทในการเกิด arteriolar vasodilatation เพื่อตอบสนองต่อภาวะ acute plasma volume expansion, การทำให้ผิวหนังร้อนขึ้น, ระหว่าง stress, การออกกำลังกาย

การศึกษาในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงทั้งชนิด primary และ secondary บ่งชี้ว่ามีการลดลงของ NO-mediated vasodilation ในเส้นเลือดส่วนต่างๆ ตรวจพบการลดการสร้าง NO ทั้งจาก endothelium และ platelet

พบว่าการตอบสนองของเส้นเลือดต่อ acetylcholine ลดลง ในขณะที่การตอบสนองต่อ endothelium-independent vasodilator ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อให้ acetylcholine ร่วมกับ arginine จะทำให้เกิด vasodilatation ในคนปกติ แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูง การศึกษาเหล่านี้บ่งชี้ว่าอาจมีความผิดปกติใน NOS หรือ cofactor ตัวใดตัวหนึ่งมากกว่าที่จะมีความผิดปกติในสารตั้งต้นของ NOS

อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบว่าความผิดปกติเหล่านี้เป็นสาเหตุของความดันโลหิตสูง หรือเป็นผลจากความดันโลหิตสูงเป็นเวลานาน

พบว่ายังสามารถตรวจพบความผิดปกติของ NO ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด atheroma และโรค

เส้นเลือด เช่น diabetes insulin resistance, hypercholesterolemia และการสูบบุหรี่

กล่าวโดยสรุป การศึกษาในสัตว์ทดลองบ่งชี้ว่าระบบ arginine-NO ทำหน้าที่เป็น counter-regulator ต่อการเกิดความดันโลหิตสูง เมื่อมีความผิดปกติของระบบดังกล่าวจะทำให้ความดันโลหิตสูงมีความรุนแรงมากขึ้น พบว่าใน DHR หรือ salt sensitive hypertension จะมีการเหนี่ยวนำ NO synthase ทั้งในระบบทั่วร่างกายหรือไต ซึ่งจะทำให้การให้ exogenous arginine ออกฤทธิ์ลดความดัน ความดันโลหิตสูงบางชนิดเกิดจากการเพิ่มการทำลาย NO โดย superoxide anion

ยังมีข้อถกเถียงถึงการศึกษาในคน ผลการศึกษาส่วนใหญ่บ่งชี้ว่ามีความผิดปกติในขบวนการ endothelium-dependent vascular relaxation

ยังมีคำถามที่รอคอยคำตอบอีกหลายประการเกี่ยวกับบทบาทของระบบ arginine-NO ต่อการเกิดความดันโลหิตสูง ได้แก่ ความสำคัญของ “basal” NO คืออะไร, อะไรเป็นปัจจัยกระตุ้นการหลั่ง NO ในเส้นเลือดแดง (shear stress?), ความสำคัญทางสรีรวิทยาของ flow-dependent dilation คืออะไร, endothelium ทำหน้าที่เป็น baroreceptor ในการกำหนด “set point” ในการควบคุมความดันโลหิตจริงหรือไม่, การเปลี่ยนแปลงของ NO-mediated dilatation เป็นสาเหตุหรือเป็นผลของภาวะความดันโลหิตสูง, ยังไม่ทราบเช่นเดียวกันว่า การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวบ่งชี้ถึงความแตกต่างของ NOS หรือความผิดปกติในการตรวจจับ shear stress หรือการเปลี่ยนความไวของ smooth muscle cell ต่อ NO หรือการเปลี่ยนแปลงการทำลาย NO อันเกิดจากการสร้าง superoxide anion

2.3 การรักษาความดันโลหิตสูง⁽⁴⁴⁾

พบว่า angiotensin converting enzyme-inhibitor (ACEI) หรือ calcium antagonist สามารถแก้ไขความผิดปกติเรื่อง basal NO-mediated dilation ในผู้ป่วย essential hypertension ยังไม่ทราบว่า ยา

ดังกล่าวจะช่วยแก้ไขความผิดปกติในการตอบสนองต่อ endothelium-dependent agonist

พบว่ามิประโยชน์ในการให้ NO-donors เช่น sodium nitroprusside ในการรักษา acute hypertensive emergency ส่วน glyceryltrinitrate และ NO-donor ที่ได้ทางรับประทานตัวอื่นออกฤทธิ์เด่นต่อต้าน vein และทำให้เกิด postural hypotension

พบว่ามิประโยชน์ไม่เด่นชัดในการให้ L-arginine ในภาวะความดันโลหิตสูง⁽⁶³⁾ แม้การศึกษาในสัตว์ทดลองบ่งชี้ว่า ภาวะ low renin (salt dependent) essential hypertension จะตอบสนองดีต่อการให้ arginine (ขนาด 30 กรัม/วัน)⁽⁶⁴⁾

angiotensin converting enzyme (ACE) จะอยู่บนเซลล์เมมเบรนของ endothelium จะเปลี่ยน Angiotensin I ไปเป็น Angiotensin II (AII) AII จะออกฤทธิ์โดยตรงต่อ vascular smooth muscle และกระตุ้น sympathetic nervous system การให้ ACEI จะช่วยลดระดับ AII ทั้งในกระแสเลือดและเฉพาะที่ทำให้เกิดภาวะ peripheral vasodilatation โดยเฉพาะในผู้ที่มี high renin นอกจากนั้นระดับ brady kinin ซึ่งเป็น vasodilator จะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากการทำลายลดลง (ACE ออกฤทธิ์เป็น kininase ทำลาย brady kinin) พบว่า ACEI ยังทำให้เส้นเลือดตอบสนองต่อ brady kinin มากขึ้น (โดยการมีการหลั่ง NO และ EDHF มากขึ้น)

ACEI บางชนิดเช่น perindopilat ยังออกฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองของเส้นเลือดต่อ acetylcholine ทำให้มี vasodilatation มากขึ้น (ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด)

ยังไม่พบหลักฐานในปัจจุบันว่า ACEI ออกฤทธิ์โดยตรงต่อการหลั่ง หรือต่อฤทธิ์ของ EDCF และ endothelin¹ เชื่อว่าผลของ ACEI ในการเพิ่มการหลั่ง EDRF ซึ่งออกฤทธิ์ต้านต่อ endothelin

3. Inflammatory Disorders^(2,7)

ลักษณะที่สำคัญของ inflammation คือ มีการรั่ว (leakage) ของของเหลว, พลาสมาโปรตีน, และการเคลื่อนที่ผ่าน (transmigration) ของเม็ดเลือดขาวจากภายในเส้นเลือด (intravascular compartment) ไปยัง (extravascular compartment) พบว่าขบวนการ inflammation จะมีประโยชน์ต่อร่างกายก็ต่อเมื่อขบวนการนี้สามารถกำจัดเชื้อโรคที่มารุกรานอย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการทำลายเนื้อเยื่อปกติในระดับน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามพบว่า ขบวนการ inflammation ในภาวะผิดปกติหลายภาวะจะทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อมากกว่าประโยชน์ (ตัวอย่างภาวะเหล่านี้ ได้แก่ vasculitis, glomerulonephritis)

endothelium มีบทบาท 2 ประการในการเกิด inflammation กล่าวคือ

1. เป็นเซลล์เป้าหมายโดยเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง antibody (Ab) ต่อ endothelium เรียก Ab นี้ว่า Antiendothelial Cell Antibodies (AECAS)

2. มีบทบาทในการเกิดการตอบสนองต่อขบวนการ inflammation

1. Endothelium เป็น target cell ในการสร้าง Ab ต่อ endothelium การศึกษาพบว่า endothelium ในภาวะปกติมีการแสดงออกถึง major histocompatibility complex (MHC) antigen class I เมื่อมี endothelium ถูกกระตุ้นจะสามารถแสดงออกถึง MHC class II ได้ด้วย

ปัจจุบันนี้ได้มีการค้นพบ autoantibodies ต่อ endothelium หรือที่เรียกว่า anti-endothelial cell antibodies (AECAS)^(14,15) ในโรคต่างๆ หลายชนิด⁽⁶⁵⁻⁷⁷⁾ เช่น autoimmune vasculitides ทั้งในเด็กและในผู้ใหญ่, SLE, HLA-matched graft rejection, thrombotic thrombocytopenic purpura, hemolytic-uremic syndrome, pre-eclampsia,

autoimmune hypoparathyroidism, Wegener's granulomatosis, microscopic polyarteritis และ primary glomerular disease เช่น IgA nephropathy เป็นต้น การศึกษาพบว่าระดับของ AECAS ก็มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคและยังใช้ทำนายการเกิดกลับเป็นซ้ำของไตอย่างค่อนข้างแม่นยำด้วย

2. Endothelium มีบทบาทในการเกิดการตอบสนองต่อขบวนการ inflammation พบว่า endothelium มีบทบาทสำคัญ 2 ประการ คือ

ก. Hemodynamic effect

ข. Leukocyte adhesion to and transmigration across vascular endothelium

ก. Hemodynamic Effect

พบว่าการเกิด vasodilatation เป็นขั้นตอนสำคัญในการตอบสนองต่อขบวนการ inflammation ผลที่ตามมาคือ มีเลือดไปเลี้ยง มีเม็ดเลือดขาว (leukocyte) ไปยังบริเวณดังกล่าวเพิ่มขึ้น การศึกษาในห้องทดลองพบว่า การให้ vasodilator ร่วมกับ chemoattractant จะทำให้มีการชุมนุมของเม็ดเลือดขาวมากกว่าเมื่อให้สารแต่ละตัวแยกกัน⁽⁷⁾

ดังได้กล่าวแต่เบื้องต้นแล้วว่า endothelium สามารถสร้างสารทั้งที่ออกฤทธิ์เป็น vasodilator (EDRF, EDHF และ PGI_2) และ vasoconstrictor (ET-1, PDGF) พบว่า cytokines หลายชนิดเช่น IL-1, TNF, LPS (ร่วมกับ IFN- γ) สามารถกระตุ้น endothelium ในการสร้าง NO พบว่า inflammatory mediators และผลผลิตจาก platelet degranulation (เช่น bradykinin, histamine, ATP, thrombin และ LTC_4) ออกฤทธิ์อย่างรวดเร็ว (วินาที ----> นาที) กระตุ้นที่ตัวรับที่ผิวเซลล์ทำให้มีการหลั่ง PGI_2 เพิ่มขึ้นถึง 50 เท่า แต่ระดับ PGI_2 คงอยู่เพียง 1-2 นาที ส่วน TNF และ IL-1 จะกระตุ้นการสร้างเอ็นไซม์ซึ่งจะเปลี่ยน arachi-

donic acid ไปเป็น PGI_2 ต้องใช้เวลาเป็นชั่วโมงในขบวนการนี้

thrombin และ calcium ionophore กระตุ้นการสร้าง ET-1 พบว่าเส้นเลือดของไตจะมีความไวเป็นพิเศษต่อ ET-1 ET-1 จะเพิ่ม vascular resistance และเพิ่มการหดตัวของ mesangial cell พบว่า endothelium จะสร้าง PDGF เมื่อถูกกระตุ้นด้วย inflammatory mediators (เช่น thrombin), cytokines (TNF, IL-1) โดยทั่วไปการกระตุ้น endothelium จะทำให้เกิด vasodilatation อย่างไรก็ตาม cytokines บางชนิด เช่น IL-1 อาจออกฤทธิ์โดยตรงต่อ vascular smooth muscle โดยมิได้ผ่านฤทธิ์ของ endothelium IL-1 และ LPS จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง calcium-independent NOS ใน vascular smooth muscle, ปอด, ตับ glucocorticoid สามารถยับยั้งการกระตุ้น NOS ได้

ข. Leukocyte adhesion to and transmigration across vascular endothelium^(7,8)

การเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อส่วนปลายมีลักษณะสำคัญคือ จะเคลื่อนที่ผ่าน postcapillary venule มากกว่า capillary (ยกเว้นใน glomerulus และปอด) ดังได้กล่าวแต่เบื้องต้นแล้วว่าขบวนการเคลื่อนที่ผ่าน (transmigration) อาจเกิดจาก gradient ของสาร chemotaxis ซึ่งเกิดระหว่างสองด้านของผนัง capillary (เชื่อว่าการเกิด gradient ยังเป็นการเตรียมเม็ดเลือดขาวในการบีบตัวผ่าน capillary) และอาจเกิดจาก adhesion molecules จำเพาะ (แสดงออกโดย postcapillary venular endothelium และใน capillary network ที่จำเพาะเช่นภายใน glomerulus) การลดลงของแรงฉีก (shear force) เช่น การเกิดการรั่ว (vascular leakiness) จากการเพิ่ม vascular permeability จะกระตุ้นขบวนการ transmigration

ในภาวะต่างๆ ที่มี inflammation การเพิ่มขึ้นของ vascular permeability ต่อของเหลวและพลาสมาโปรตีน เกิดโดยการเปลี่ยนแปลงของ endothelium 4 ประการ⁽⁷⁾ ได้แก่ endothelial cell contraction, endothelial cell cytoskeletal reorganization, endothelial denudation without injury, endothelial denudation with injury นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของ permeability โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ endothelium ยังเป็นผลจากการที่ neutrophil ทำปฏิกิริยากับ endothelium โดยเฉพาะในขบวนการที่ neutrophil เคลื่อนที่ผ่าน endothelium (emigration)

endothelial cell contraction เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลาเป็นนาที พบว่า thrombin, histamine และ LTC_4 เป็นตัวกระตุ้นขบวนการโดยผ่านการเพิ่มระดับ intracellular calcium โดยอาศัย calmodulin และ myosin light-chain kinase endothelial cell contraction ที่เกิดจากการกระตุ้นโดย histamine จะดำรงอยู่นาน 30 นาที ในขณะที่เกิดจากการกระตุ้นโดย LTC_4 จะดำรงอยู่นานหลายชั่วโมง

การเกิด cytoskeletal และ junctional reorganization ร่วมกับการสูญเสีย dense peripheral band ของ actin ที่ cell junction พบว่า cytokines หลายชนิด (เช่น TNF, IL-1 และ IFN- γ) จะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการดังกล่าว โดยทั้งช่วงเวลา 4 ถึง 6 ชั่วโมงภายหลังการกระตุ้น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว และเพิ่ม permeability

เม็ดเลือดขาวหลายชนิด เช่น cytotoxic T lymphocyte, NK cells และ neutrophils มี Fc receptor สำหรับการรวมตัวกับ antibody บนผิวเซลล์ endothelium neutrophil สร้าง oxygen radicals และ proteolytic enzymes ส่วน cytotoxic T cells และ NK cells จะทำลาย endothelium โดยกลไกที่ไม่ขึ้นต่อ oxygen โดยจะมีการใส่ pore forming protein เข้าสู่เซลล์เมมเบรนเป้าหมาย ภายหลัง endothelium ได้รับ

อันตรายจะหดตัว (retract), สลายตัว (lysis), และ/หรือหลุดจาก basement membrane ถ้า endothelium ที่อยู่รอบๆ ไม่สามารถกระจายตัวมาปิดที่มีความบกพร่องแล้วจะทำให้ vascular permeability เพิ่มขึ้น

ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการเพิ่ม vascular permeability ในสิ่งมีชีวิตจริงๆ พบว่า TNF และ IL-1 ออกฤทธิ์โดยตรงต่อ cytoskeleton และ cell junctions ของ endothelium และออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยกระตุ้น endothelium ให้กระตุ้นขบวนการ coagulation ให้มีการสร้าง thrombin และ fibrinogen peptides ทำให้เกิดการหดตัว พบว่าแม้ TNF และ IL-1 ไม่ทำลาย endothelium โดยตรง แต่จะกระตุ้น endothelium ให้มีการแสดงออกของ adhesion molecules ซึ่งจะรวมตัวและกระตุ้น leukocyte ทำให้มีการทำลาย endothelium

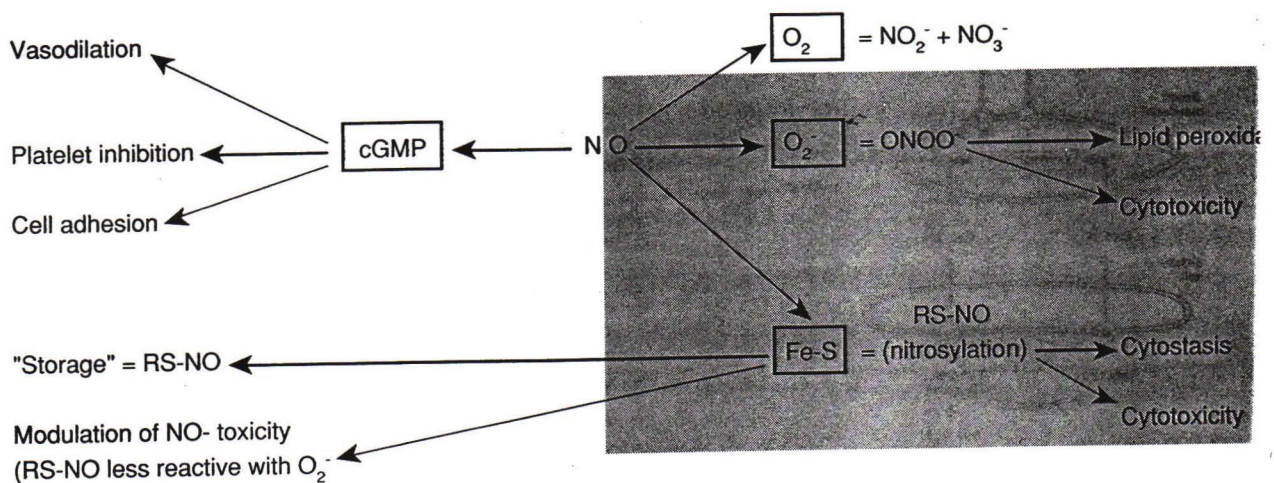
บทบาทของ Endothelium ในการเกิด glomerular inflammation⁽⁸⁾

endothelium เป็น target ต่อการสร้าง antibody (Ab) ใน glomerulonephritis หลายชนิด (ดูรายละเอียดในเรื่อง AECAS) endothelium มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อขบวนการ inflammation ในการนำ leukocyte จาก lumen ผ่าน endothelium สู่เนื้อเยื่อ (ดูรายละเอียดในตอนต้น) เมื่อมี Ab มาเกาะติดที่ glomerulus ผลที่ตามมาคือ มีการกระตุ้น complement (C) จาก C_5 กลายเป็น C_{5a} (anaphylatoxin) ซึ่งออกฤทธิ์เป็น chemotactic peptide ที่มีประสิทธิภาพ Fc portion ของ Ab จะกระตุ้น Fc receptor บน mesangial cell และ resident macrophage ใน glomerulus ให้หลั่ง chemoattractants หลายชนิด เช่น IL-8, GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), TNF chemoattractants เหล่านี้จะกระตุ้นให้ leukocyte มาติดกับ endothelium และเคลื่อนที่ผ่าน endothelium ออกมาสู่เนื้อเยื่อ leukocyte จะปล่อย proteolytic enzymes และ reactive oxygen

species ต่างๆ มาทำลายเนื้อไต เรียกกระบวนการนี้ว่า "Frustrated Phagocytosis"

พบว่าภาวะ glomerulonephritis จะมีการสร้าง NO เพิ่มขึ้น⁽⁷⁸⁾ โดยผ่านทาง iNOS เซลล์ macrophage ที่มาชุมนุมเป็นแหล่งสังเคราะห์หลักของ NO เซลล์ของ glomerulus เช่น mesangial cell, endothelium และ epithelium สามารถสร้าง NO ได้

เช่นกัน NO ที่ถูกสังเคราะห์นี้ทำหน้าที่เหมือนเป็นดาบสองคม (รูปที่ 2) การศึกษาหลายรายงานบ่งชี้ถึงบทบาทของ NO ในการเป็น chemoattractant ให้ macrophage มาชุมนุม (ทำหน้าที่เป็น proinflammatory mediator), มีรายงานบทบาท NO ในฐานะเป็น oxygen radicals scavenger



รูปที่ 2. ฤทธิ์ของ Nitric Oxide ในการปกป้อง และทำลาย Glomerulus

การศึกษาในสัตว์ทดลองเกี่ยวกับ glomerulonephritis ชนิด heterologous nephrotoxic nephritis และ Heyman nephritis พบว่า NO มีบทบาทป้องกันเนื้อไต ส่วนในชนิด anti Thy 1 glomerulonephritis พบว่า NO มีบทบาททำลายเนื้อไต

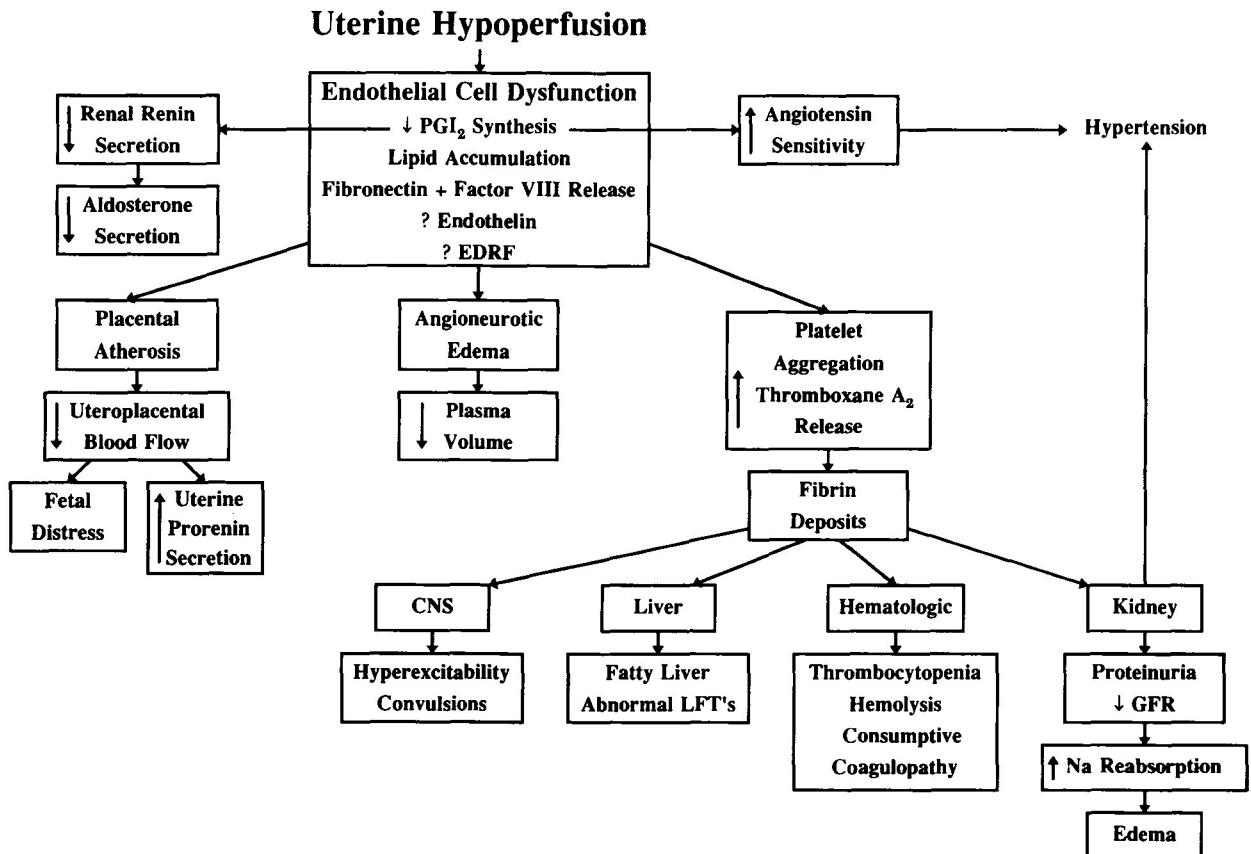
4. Preeclampsia

บทบาทของ endothelium ในการเกิดภาวะ Pre-eclampsia

ดังได้กล่าวในเรื่อง AECAS แล้วว่ามีการตรวจพบ AECAS ในผู้ป่วย pre-eclampsia⁽⁷⁶⁾ เชื่อว่า AECAS ทำให้ endothelium ทำงานผิดปกติไป (endo-

thelial cell dysfunction) ภาวะ endothelial cell dysfunction อาจเกิดจากมีภาวะ uterine hypoperfusion⁽⁷⁹⁾ พบภาวะดังกล่าวในการตั้งครรภ์แฝดซึ่งมีรกขนาดใหญ่ หรือในภาวะ hydatidiform mole เมื่อวัด uterine blood flow ใน preeclampsia พบว่ามีค่าลดลง การศึกษาในลิงที่ตั้งท้องพบว่า เมื่อทำให้ uterine blood flow ลดลงจะทำให้เกิดความดันโลหิตขึ้นสูงร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของไตที่มีลักษณะเหมือนภาวะ preeclampsia ในคน

ได้แสดงกลไกการเกิดภาวะ preeclampsia ในรูปที่ 3



รูปที่ 3. สมมุติฐานของกลไกพื้นฐานการเกิดภาวะ Pre-eclampsia

5. Diabetes⁽⁸⁰⁻⁸²⁾

บทบาทและการเปลี่ยนแปลงของ endothelium ในโรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus, DM)

การศึกษาในสัตว์ทดลองหลายรายงานพบความผิดปกติของ endothelium-dependent relaxation ในเส้นเลือดหลายแห่ง พบว่าระดับ basal และ stimulated cGMP มีค่าลดลง เมื่อบ่มเพาะ endothelium กับ glucose จะทำให้เกิดความผิดปกติของ endothelium-dependent relaxation เหมือนในสัตว์ทดลองหรือคนที่เป็นเบาหวาน ตรวจไม่พบความผิดปกติดังกล่าวในเบาหวานชนิด IDDM อย่างไม่รุนแรง พบว่าในหนูที่เป็น IDDM มีปริมาณของ NO₂⁻/NO₃⁻ สูงกว่าหนูปกติ 6 เท่า อย่างไรก็ตามพบว่า NO ไม่สามารถทำให้เกิด

vasodilatation ในหนูที่เป็น IDDM เชื่อว่าเป็นเพราะ advanced glycosylation end products (AGE) ยับยั้งการทำงานของ NO พบว่ามีสาเหตุหลายประการที่ทำให้ร่างกายไม่สามารถสร้าง, หลั่ง NO และทำงานได้ตามปกติ ได้แก่

- 1) มีการทำลายของ endothelial cell (จาก AGE; glycosylated hemoglobin)
- 2) มีการรบกวนการสังเคราะห์ NO (จาก hypercholesterolemia, AGE, การเพิ่ม polyol, การยับยั้ง Na-K-ATPase)
- 3) มีการเพิ่มการทำลายของ NO (จาก AGE, การลดลงของ antioxidant)

6. Acute Renal Failure (ARF)⁽⁸³⁾

บทบาทของ endothelium ในการเกิดการทำลายเนื้อเยื่อในภาวะ ARF พบว่าการเกาะติด (adherence) ของ neutrophil กับ vascular endothelium เป็นขั้นตอนสำคัญในการเคลื่อนที่ของ neutrophil ไปยังเนื้อเยื่อที่ขาดเลือด การเกาะติดเกิดโดย chemotaxis จากการกระตุ้น complement (C_{5a}) neutrophil จะหลั่ง reactive oxygen species, proteases, elastases, myeloperoxidase เพื่อทำลายเนื้อเยื่อ สารเหล่านี้ร่วมกับ leukotriene B_4 และ platelet-activating factor จะออกฤทธิ์เพิ่ม vascular permeability และเพิ่มการแสดงออกของ adhesion molecules ซึ่งจะทำให้ขอบวณการ inflammation เป็นมากขึ้น การศึกษาในสัตว์ทดลองที่มีภาวะ renal ischemia พบว่าการขาด neutrophils, การยับยั้งการเกาะติดของ neutrophil ต่อ endothelium และการยับยั้งระบบ complement จะลดการทำลายเนื้อไต พบว่าการให้ monoclonal antibody ต่อ ICAM-1 จะช่วยป้องกันการทำลายเนื้อไตใน ischemic ARF ประสิทธิภาพดังกล่าวยังคงดำรงอยู่แม้ให้ antibody ภายหลังการเกิดการขาดเลือดเป็นเวลาถึง 2 ชั่วโมง สัตว์ทดลองที่ไม่มี ICAM-1 จะปลอดภัยจากภาวะ ARF

7. Chronic Renal Failure (CRF)^(84,85)

บทบาทของ endothelium ในการเกิดการทำงานของไตในภาวะไตวายเรื้อรัง โรคไตวายเรื้อรัง (CRF) ทั้งที่มีสาเหตุจาก chronic glomerulonephritis ก็ดี จาก chronic tubulointerstitial nephritis ก็ดี หรือจากเหตุอื่นๆ ก็ดี มีลักษณะคล้ายกันประการหนึ่ง คือ จะมี progression จากโรคที่เป็นน้อย ไม่รุนแรง เป็น end-stage renal disease (ESRD) ในที่สุด ผู้ป่วยโรคไต chronic glomerulonephritis มีอัตราการเปลี่ยนแปลง glomerular filtration rate (GFR) ประมาณ -3 ถึง -6 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อปีของ

การดำเนินโรค และผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) มีประมาณ -6 ถึง -10 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อปีของการดำเนินโรค และถ้าเริ่มต้นจาก serum creatinine เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มสามารถมีชีวิตยืนยาวอยู่ได้ก่อนถึงระยะ ESRD เท่ากับ 10-15 เดือน และ 6-12 เดือนตามลำดับ ปัจจุบันพบว่า ในขณะที่มี progression ของโรค มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพหลายแห่ง ทั้งที่เป็น glomerular changes ที่สำคัญคือ glomerulosclerosis และที่เป็น tubulointerstitial changes เช่น tubular atrophy, tubulo-interstitial fibrosis เป็นต้น progression ของ CRF มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ tubular หรือ tubulointerstitial changes มากกว่าสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ glomerular changes มีปัจจัยเกื้อหนุนหลายประการ ทั้งที่เป็น immunologic และ nonimmunologic factors ที่ทำให้การดำเนินโรคของ CRF ดังกล่าว มีมากขึ้นหรือน้อยลง

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิด progression ของ CRF มีหลายประการ คือ

1. Systemic hypertension, glomerular hyperfiltration และ intraglomerular hypertension
2. Renal hypertrophy
3. บทบาทของเซลล์, cytokines และ growth factor
4. Hormones (เช่น AII และ Endothelin)
5. Proteinuria
6. Hypermetabolism
7. Hyperlipidemia
8. Nephrocalcinosis
9. Intraglomerular Coagulation
10. ภาวะ congenital oligonephropathy
11. Genetic factor

endothelium มีบทบาทในการทำให้เกิด progression ของโรค CRF โดยมีส่วนทำให้เกิด glomerulosclerosis โดยผ่านกลไกหลายประการดังกล่าวก่อนหน้านี้ (84)

ภาวะความดันโลหิตที่สูงขึ้นหรือการเพิ่ม intracapillary pressure ในเนื้อไต ส่วนที่เหลือจะส่งแรงดัน (mechanical strain) ผ่าน endothelium ของ capillary ไปยัง mesangial cell พบว่า endothelium จะหลั่ง endothelin และ growth factors เช่น FGF, PDGF, และ TGF- β ผลที่ตามมาจะมีปริมาณของ glomerulus เพิ่มขึ้น ซึ่งจะกระตุ้น mesangial cell ให้หลั่ง TGF- β

ความดันโลหิตที่สูงขึ้นยังอาจเป็นผลจากความไม่สมดุลของ vasoconstrictor (ระบบ Renin-angiotensin II-aldosterone, noradrenaline และ endothelin) ที่มีมากกว่า vasodilator (NO, ANP, Bradykinin, corticosteroid) AII ร่วมกับภาวะ mechanical strain จะกระตุ้น mesangial cell ให้สร้าง matrix protein, type I collagen, กระตุ้น TGF- β , PDGF

เมื่อมี glomerular inflammation เกิดขึ้นในระยะแรกจะมี platelets และ neutrophil มาชุมนุม ต่อมาจะมี lymphocyte และ macrophage สุดท้ายจึงมี fibroblast เกิดขึ้น macrophage ผลิต IL-1 และ TNF- β ภายในเวลา 2-3 วันต่อมาจะมีการหลั่ง PDGF และ TGF- β ในช่วงแรกนี้พบว่าปริมาณของ TGF- β มีน้อย และออกฤทธิ์ยับยั้ง lymphocyte และ phagocyte ทำให้ inflammation ไม่ดำเนินต่อไป การศึกษายังพบว่า eicosanoids บางชนิด ได้แก่ 15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15 (S)-HETE) และ lipoxins มีฤทธิ์ antiinflammation eicosanoid เหล่านี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ arachidonic acid โดยเอนไซม์ 12- และ/หรือ 15-lipoxygenase pathway

ในเวลาต่อมาจะมีการหลั่ง TGF- β ในปริมาณมากนำไปสู่การสะสมของ extracellular matrix protein (TGF- β กระตุ้นการสร้าง matrix และกระตุ้นการสร้าง integrin ซึ่งควบคุมการรวมตัวของ matrix) และตามมด้วยขบวนการ fibrosis (TGF- β ออกฤทธิ์ยับยั้ง metalloproteinases ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการเกิด fibrosis) ตลอดระยะเวลาเหล่านี้ระดับของ fibroblast growth factor (FGF) จะมีระดับเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง

TGF- β ถูกสร้างโดย platelet, monocyte/macrophage, mesangial cell, vascular smooth muscle cell และ endothelium

ระดับ LDL ที่สูงขึ้นในกลุ่มโรค nephrotic syndrome หรือ glomerulonephritis จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเป็น oxidized LDL ที่บริเวณ subendothelium ของ glomeruli ทำอันตรายต่อ endothelium และทำให้เกิดการสร้าง Thromboxane, การหลั่ง cytokines, เกิด chemoattraction ของ monocytes และ macrophages ซึ่งจะหลั่ง PDGF และ TGF- β oxidized LDL จะถูก scavenger receptors ของ mesangial cell และ epithelial cell จับไว้ และมีการแสดงออกของ TGF- β ผลที่ตามมาคือ มี collagen มาเกาะติดและเกิด fibrosis ตามมา

8. บทบาทของ endothelium ในโรคอื่นๆ

พบว่า endothelium ยังเป็น target ของการออกฤทธิ์ของ Vascular endothelial growth factor (VEGF) ในการเกิด angiogenesis⁽⁸⁶⁾ ซึ่งมีความเชื่อว่าน่าจะเป็นเหตุพื้นฐานในการเกิดการสร้างเพิ่มจำนวนของเส้นเลือด (Angiogenesis) ในเนื้องอก และในภาวะ proliferative nephropathy ในโรคเบาหวาน

อ้างอิง

1. Boulanger CM, Vanhoutte PM. The Endothelium: A Pivotal Role in Health and Cardiovascular Disease. France: Servier Drug, 1994: 1-64
2. Meidell RS. Southwestern Internal Medicine Conference. Endothelial dysfunction and vascular disease. Am J Med Sci 1994 May; 307(5): 378-89
3. Palade GE. Transport of macromolecules across the vascular endothelium Proceedings of the VII the International Symposium on the Biology of Vascular Cells, San Diego, November 1992: 10-4
4. Niimi N, Noso N, Yamamoto S. The effect of histamine on cultured endothelial cells. A study of the mechanism of increased vascular permeability. Eur J Pharmacol 1992 Oct 20;221 (2-3): 325-1
5. Suttorp N, Weber V, Welsch T, Schudt. Role of phosphodiesterases in the regulation of endothelial permeability in vitro. J Clin Invest 1993 Apr;91 (4): 1421-8
6. Filep JG, Foldes-Filep E, Rousseau A, Fournier A, Sirois P, Yano M. Endothelin-1 enhances vascular permeability in the rat heart through the ET receptor. Eur J Pharmacol 1992 Aug 25;219 (2): 343-4
7. Savage CO, Bogle R. Resident glomerular cells in glomerular injury: endothelial cells. Semin Nephrol 1991 May;11 (3): 312-9
8. Takano T, Brady HR. The endothelium in glomerular inflammation. Curr Opin Nephrol Hypertens 1995 May;4 (3): 277-86
9. Brady HR. Leukocyte Adhesion Molecules and Kidney Diseases. Kidney Int 1994 May;45 (5): 1285-300
10. Dal Canton AD. Adhesion molecules in renal disease. Kidney Int 1995 Dec; 48 (6): 1687-96
11. Stewart RJ, Marsden PA. Vascular endothelial cell activation in models of vascular and glomerular injury. Kidney Int 1994;45 (suppl): S37-44
12. Shimizu Y, Shaw S. Cell adhesion. Mucins in the Mainstream. Nature 1993 Dec 16;366 (6456): 630-1
13. Vaporciyan AA, DeLisser HM, Yan H-C, Mendiguren II, Thom SR, Jones ML, Ward PA, Albelda SM. Involvement of Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 in neutrophil recruitment in vivo. Science 1993 Dec 3;262 (5139): 1580-2
14. Trakarnvanich T, Eiam-Ong S, Chusil S, Sitprija V. Intern Med 1995 Apr-Jun;11 (2): 76-81
15. Lindqvist KJ, Osterland CK. Human antibodies to vascular endothelium. Clin Exp Immunol 1971 Dec;9 (6): 753-60
16. เจริญ เกียรติวัชรชัย, สมชาย เอี่ยมอ่อง. Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF) [Nitric Oxide, Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor, Prostacyclin and Endothelium-Derived Contracting Factor (EDCF)] ใน: วิจิตร บุญพรรค นาวิก, สมชายเอี่ยมอ่อง และคณะ, บรรณาธิการ

- ตำราโรคไต มูลนิธิโรคไตแห่งประเทศไทย
กรุงเทพฯ: กรุงเทพเวชสาร 2539: 1126-55
17. Anggard E. Nitric Oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994 May 14;343 (8907): 1199-206
 18. Lowenstein CL, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric Oxide: a physiologic mesanger. *Ann Intern Med* 1994 Feb;120 (3): 227-37
 19. Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: Patho-physiological mechanism. *Annu Rev Physiol* 1995;57: 737-69
 20. Bredt DS, Snyder SH. Nitric Oxide. a physiologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem* 1994;63: 175-95
 21. Wang Y, Marsden PA. Nitric oxide synthases: biochemical and molecular regulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995 Jan; 4 (1): 12-22
 22. Griffith OW, Stuehr DJ. Nitric oxide synthase: properties and catalytic mechanism. *Annu Rev Physiol* 1995;57: 707-36
 23. Moncada S, Vane JR. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endo-peroxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 1979;30: 293-304
 24. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. Endothelin. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988 Mar 31;332 (6163): 411-5
 25. Berk BC, Alexander RW, Brock TA, Gimbrone MA JR, Webb RC. Vasoconstriction: a new activity for platelet-derived growth factor. *Science* 1986 Apr 4;232 (4746): 87-90
 26. Nguyen BL, Saitoh M, Ware JA. Interaction of nitric oxide and cGMP with signal transduction in activated platelets. *Am J Physiol* 1991 Oct;261 (4 pt1): H 1043-52
 27. Durante W, Kroll MH, Vanhoutte PM, Schafer AL. Endothelium-derived relaxing factor inhibits thrombin induced platelet aggregation by inhibiting platelet phospholipase C. *Blood* 1992 Jan 1;79 (1): 110-6
 28. Dittman WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood* 1990 Jan 15;75 (2): 329-36
 29. Marcus AJ, Safier LB, Hajjar KA, Ullman HL, Islam N, Brockman MJ, Eiroa AM. Inhibition of platelet function by an aspirin-insensitive endothelial cell ADPase. *Thromboregulation by endothelial cells. J Clin Invest* 1991 Nov;88 (5): 1690-6
 30. Stern D, Nawroth P, Marcum J, Handley D, Kisiel W, Rosenberg R, Stem K. Interaction of antithrombin III with bovine aortic segments: Role of heparin in binding and enhanced anticoagulant activity. *J Clin Invest* 1985 Jan;75 (1): 272-9
 31. Rosenberg RD. Biochemistry of heparin antithrombin interactions, and the physiologic role of this natural anticoagulant mechanism. *Am J Med* 1989 Sep 11;87 (3B): 2S-9S

32. Castellino FJ. Biochemistry of human plasminogen. *Semin Thromb Hemost* 1984 Jan;10 (1): 18-23
33. Gerard RD, Meidell RS. Regulation of tissue plasminogen activator expression. *Ann Rev Physiol* 1989;51: 245-62
34. Davies PF. Vascular cell interactions with special reference to the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest* 1986 Jul;55 (1): 5-24
35. De May JG, Schiffers PM. Effects of endothelium on growth responses in arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;21 Suppl 1: S 22-5
36. Chamley-Campbell JH, Campbell GR, Ross R. Phenotype dependent responses of cultured aortic smooth muscle to serum mitogens. *J Cell Biol* 1981 May;89 (2): 379-83
37. Ausprunk DH, Boudreau CL, Nelson DA. Proteoglycans in the microvasculature. Histochemical localization in microvessels of the rabbit eye. *Am J Pathol* 1981 Jun;103 (3): 353-66
38. Collins T. Endothelial nuclear factor-kappa B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest* 1993 May;68 (5): 499-508
39. Lefer AM, Ma XL. Cytokines and growth factors in endothelial dysfunction. *Crit Care Med* 1993 Feb;21 (2 Suppl): S 9-14
40. Bossaller C, Habib GB, Yamamoto H, Williams C, Wells S, Henry PD. Impaired muscarinic endothelium-dependent relaxation and cyclic guanosine 5'-monophosphate formation in atherosclerotic human coronary artery and rabbit aorta. *J Clin Invest* 1987 Jan;79 (1): 170-4
41. Yamamoto H, Bossaller C, Cartwright J Jr, Henry PD. Video-microscopic demonstration of defective cholinergic arteriolar vasodilatation in atherosclerotic rabbit. *J Clin Invest* 1988 Jun;81 (6): 1752-8
42. FitzGerald GA, Smith B, Pedersen AK, Brash AR. Increased prostacyclin biosynthesis in patients with severe atherosclerosis and platelet activation. *N Engl J Med* 1984 Apr 26;310 (17): 1065-8
43. Golino P, Piscione F, Willerson JT, Cappelli-Bigazzi M, Focaccio A, Villari B, Indolfi C, Russolillo E, Chiariello M. Divergent effects of serotonin on coronary-artery dimensions and blood flow in patients with coronary atherosclerosis and control patients. *N Engl J Med* 1991 Mar 7;324 (10): 641-8
44. Baylis C, Vallance P. Nitric oxide and blood pressure: effects of nitric oxide deficiency. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996 Jan; 5 (1): 80-8
45. Arnal JF, Michel JB, Harrison DG. Nitric oxide in the pathogenesis of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995 Mar; 4 (2): 182-8
46. Ito S. Nitric oxide in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995 Jan;4 (1): 23-30

47. Raij L, Buylis C. Glomerular actions of nitric oxide. *Kidney Int* 1995 Jul;48 (1): 20-32
48. Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization and function. *Am J Kidney Dis* 1994 Jul;24 (1): 112-29
49. Cowley AW, Jr' Mattson DL, Lu S, Roman RJ. The renal medulla and hypertension. *Hypertension* 1995 Apr;25 (4pt2): 663-73
50. Stoos BA, Garcia NH, Garvin JL. Nitric oxide inhibits sodium reabsorption in the isolated perfused cortical collecting duct. *J Am Soc Nephrol* 1995 Jul;6 (1): 89-94
51. Blantz RC, Lortie M, Vallon V. Activities of Nitric oxide in Normal Physiology and Uremia. *Semin Nephrol* 1996 Mar;16 (2): 144-50
52. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isoenzymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994 Jun;23 (6 pt2): 1121-31
53. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992 Jul;90 (1): 278-81
54. Ribeiro MO, Antunes E, De Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992 Sep;20 (3): 298-303
55. Qiu C, Engels K, Baylis C. Angiotensin II and alpha1-adrenergic tone in chronic nitric oxide blockade-induced hypertension. *Am J Physiol* 1994 May;266 (5 pt 2): R 1470-6
56. Fujihara CK, Michelazzo SM, Zatz R. Long Term Endothelin Blockade does not prevent the functional and morphologic consequences of chronic nitric oxide inhibition [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1994;5: 578
57. Chen PY, Sanders PW. Role of nitric Oxide synthesis in salt sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *Hypertension* 1993 Dec; 22 (6): 812-8
58. Chen PY, St John PL, Kirk KA, Abrahamson DR, Sanders PW. Hypertensive nephrosclerosis in the Dahl-Rapp rat. Initial sites of injury and effect of dietary L-arginine supplementation. *Lab Invest* 1993 Feb;68 (2): 174-84
59. Chen PY, Sanders PW. L-arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 1991 Nov;88 (5): 1559-67
60. Deng X, Welch WJ, Wilcox CS. Renal vasoconstriction during inhibition of NO synthase: effects of dietary salt. *Kidney Int* 1994 Sep;46 (3): 639-46
61. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene encoding for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995 Sep 21;377 (6546): 239-41

62. Bockman CS, Jeffries WB, Pettinger WA, Abel PW. Enhanced release of endothelium-derived relaxing factor in mineralocorticoid hypertension. *Hypertension* 1992 Sep;20 (3): 304-13
63. MacAllister RJ, Calver AL, Collier J, Edwards CM, Herreros B, Nussey SS, Vallance P. Vascular and hormonal responses to arginine: provision of substrate for nitric oxide or non-specific effect? *Clin Sci* 1995 Aug;89 (2): 183-9
64. Kanno K, Hirata Y, Emori T, Ohta K, Eguchi S, Imai T, Marumo F. L-arginine infusion induced hypotension and diuresis/natriuresis with concomitant increased urinary excretion of nitrite/nitrate and cyclic GMP in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1992 Sep; 19 (9): 619-25
65. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR. Culture of human endothelial cells derived from umbilical vein. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest* 1973 Nov; 52 (11): 27745-56
66. Cines DB, Lyss AP, Reeber M, Bina M, Dettoratus RJ. Presence of complement-fixing antiendothelial cells antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1984 Mar;73 (3): 611-25
67. van der Zee JM, Siegert CEH, de Vreede TA, Daha MR, Breedveld FC. Characterization of antiendothelial cells antibodies in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 1991 May;84 (2): 234-44
68. D'cruz DP, Houssiau FA, Ramirez G, Baguley E, McCutcheon J, Vianna J, Haga HJ, Swana GT, Taylor JC, et al. Antibodies to endothelial cells in systemic lupus erythematosus: a potential marker for nephritis and vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1991 Aug;85 (2): 254-61
69. Perry GJ, Elston T, Khouri NA, Chan TM, Cameron JS, Frampton G. Antiendothelial cell antibodies in lupus: correlations with renal injury and circulation markers of endothelial damage. *Q J Med* 1993 Nov; 86 (11): 727-34
70. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segment necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody. Possible arbovirus etiology? *Br Med J* 1982 Aug 28;285 (6342): 606
71. van Der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, van der Giessen M, van der Hem GK. Auto-antibodies to neutrophils and monocytes: A new tool for diagnosis and a marker of disease activity in Wegener's Granulomatosis. *Lancet* 1985 Feb 23;2 (8426): 425-9
72. Chan TM, Frampton G, Jane DRW, Perry GT, Lockwood CM, Cameron JS. Clinical significance of antiendothelial cell antibodies in systemic vasculitis: a longitudinal study comparing anti-endothelial cell antibodies and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Kidney Dis* 1993 Sep; 22 (3): 387-92

73. Yap HK, Sakal RS, Bahn L, Rappaport V, Woo KT, Ananthurman V, Lim CH, Chiang GS, Jordan SC. Anti-vascular endothelial cell antibodies in patients with IgA nephropathy: Frequency and clinical significance. *Clin Immunol Pathol* 1988 Dec;49 (3): 450-62
74. Wang MX, Walker RG, Kincaid-Smith P. Clinicopathologic associations of anti-endothelial cell antibodies in immunoglobulin A nephropathy and lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 1993 Sep;22 (3): 378-86
75. Cerilli J, Holliday JE, Feserman DP, Folger MR. Antivascular endothelial cell antibody-Its role in transplantation. *Surgery* 1977 Feb;81 (2): 132-8
76. Rappaport VJ, Hirata G, Yap HK, Jordan SC. Antivascular endothelial cell antibodies in severe pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990 Jan;162 (1): 138-46
77. Leung DYM, Moake JL, Havens PL, Kim M, Pober JS. Lytic antiendothelial cell antibodies in hemolytic uremic syndrome. *Lancet* 1988 Jul 23;2 (8604): 183-6
78. Cattell V, Cook T. The nitric oxide pathway in glomerulonephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995 Jul;4 (4): 356-64
79. Paller MS, Ferris TF. The Kidney and Hypertension in Pregnancy in: Brenner BM, ed. *The Kidney*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders 1996: 1731-63
80. Bank N, Aynedjian HS. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration. *Kidney Int* 1993 Jun;43 (6): 1306-12
81. Traub O, van Bibber R. Role of nitric oxide in insulin-dependent diabetes mellitus-related vascular complications. *West J Med* 1995 May;162 (5): 439-45
82. Tesfamariam B. Diabetes and vascular disease: functional alterations in adrenergic neurotransmission and endothelium. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995 Jan;4 (1): 92-7
83. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996 May 30;334 (22): 1448-60
84. เกียรติ ตั้งสง่า, โสภณ นภาร, สมชาย เอี่ยมม่อง. Conservative Management สำหรับผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรัง ใน: สมชาย เอี่ยมม่อง, เกียรติ ตั้งสง่า, (บรรณาธิการ) โรคไต กลไก พยาธิสรีรวิทยา การรักษา. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชวนพิมพ์ 2539: 309-46
85. Wardle N. Glomerulosclerosis: The final pathway is clarified, but can we deal with the triggers ?. *Nephron* 1996;73:1-7
86. Ferrara N, Bunting S. Vascular endothelial growth factor, a specific regulator of angiogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996 Jan;5 (1): 35-44