

KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞINDA PULMONER HEMODİNAMİDEKİ DEĞİŞMELERDE ENDOTEL 1'İN ROLÜ*

Gülfem E. Çelik** • Gülseren Karabıkoğlu***

ÖZET

Pulmoner hipertansiyonu olan KOAH'lı hastalarda, pulmoner arter kan ET-1 düzeyinin pulmoner arter basıncı üzerindeki etkisi gündemdeki bir konudur. Çalışmamızda, pulmoner hipertansiyonu bulunmayan (grup 1; n:9) ve bulunan (grup 2; n:17) KOAH'lı olguların pulmoner arter ve periferik ven örnekleri ile 10 sağlıklı gönüllünün periferik ven ET-1 düzeylerine bakıldı.

Kontrol grubu ve hasta grubunda periferik ven ET-1 düzeyleri arasında fark yoktu. Grup 1'de pulmoner arter ile periferik ven ET-1 düzeyi arasında fark yoktu. Grup 2'deki pulmoner arter ortalama ET-1 düzeyi; kontrol grubu periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden, grup 1 periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden, grup 2 pulmoner arter ortalama ET-1 düzeyinden ve grup 2 periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden anlamlı olarak farklı bulundu. Bu sonuç pulmoner hipertansiyonda ET-1'in lokal salındığı hipotezi desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Endotelin-1, pulmoner hipertansiyon, KOAH

SUMMARY

The Role of Endothelin-1 in the Changes of the Pulmonary Hemodynamics in Chronic Obstructive Lung Diseases

In pulmonary hypertensive COPD patients, the influence of pulmonary arterial ET-1 level on the pulmonary artery pressure is a current topic. In our trial, the pulmonary artery and peripheral venous ET-1 levels of COPD patients without pulmonary hypertension (group 1) and with pulmonary hypertension (group 2) and peripheral venous samples of 10 healthy volunteers were assayed.

There were no difference of peripheral venous ET-1 levels between control group and patient group. In group 1, pulmonary artery and peripheral venous ET-1 levels were not different. In group 2, pulmonary artery mean ET-1 levels were significantly different from the peripheral venous ET-1 levels of control group, from the pulmonary artery mean ET-1 level of group 1 and from peripheral venous ET-1 levels of group 2. This finding support the hypothesis of a locally release of ET-1 in pulmonary hypertension.

Key Words: Endothelin-1, pulmonary hypertension, COPD

Pulmoner hipertansiyon patogenezinde endotel disfonksiyonu son yılların ilgi alanlarından. Pulmoner endotelin, mitojenik ve antimitojenik aktivitesi olan pek çok vazoaktif maddenin salınımında ve dolaşan birtakım vazoaktif hormonun eliminasyonunda rolü olduğu bilinmektedir. Hangi nedenle olursa olsun, pulmoner hipertansiyonda endotelden NO ve prostasiklin gibi vazodilatör özelliği bilinen ürünlerin salınımında defekt olur. Ayrıca, pulmoner endotel çeşitli uyarılarla ortama Endotelin-1 (ET-1) salar. Sonuçta pulmoner endotelin vasküler tonusu düşük tutma özelliği azaldığı için

denge vazokonstriksiyon lehine bozulmaktadır (1,2,3).

Günümüze dek, ET-1'in pek çok patolojide rolü araştırılmıştır. Literatürde çok az sayıda yapılmış çalışmada belirtildiği gibi, pulmoner hipertansiyon bulunan olgularda, özellikle pulmoner arter kan örneği ET-1 düzeyinin pulmoner arter basıncını arttırmadaki önemi tartışılmaktadır. Bu ilişkilerden yola çıkılarak, KOAH grubu ile kontrol grubu olarak alınan sağlıklı bireylerin periferik ven kan örneklerinde, ET-1 düzeyleri arasında fark olup olmadığı, KOAH'lı hastalarda, pulmoner hipertansiyonu bulun-

* 1996 yılı European Respiratory Society (ERS) kongresinde, Stockholm'de sunulmuştur.

** Uzman Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tbc ABD

*** Öğretim Üyesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tbc ABD

mayan ve pulmoner hipertansiyonu bulunan olgularda, periferik ven ve pulmoner arter ET-1 düzeyleri yönünden fark olup olmadığını ve pulmoner hipertansiyonun patogeneziindeki ET-1'in olası rolünü literatür bilgileri ışığında tartıştık.

MATERYAL VE METOD

Olguların özellikleri: Çalışmaya, kliniğimizde yatarak takip edilen, KOAH tanılı 26 olgu alındı. KOAH tanısı "American Thoracic Society" (ATS) kriterlerine göre konuldu (4). 26 olgunun 13'ü amfizem ağırlıklı, 2'si kronik bronşit ağırlıklı, 11'i amfizem veya kronik bronşit ayrımının tam yapılamadığı KOAH tanılı idi. Üç olguda kronik kor pulmonale gelişmişti ve ayrıca 2 olguda birlikte bronşektazi bulunuyordu. Pulmoner hipertansif grupta bulunan bir kadın hasta dışında tüm olgular erkekti. Olgular, kendilerine yapılacak işlemlerle ilgili bilgi verilip izinleri alındıktan sonra, stabil oldukları dönemde çalışmaya alındılar. Bütün hastaların yaş, cinsiyet, sigara içimi, hastalık süresi, eşlik eden diğer hastalık ve semptomları kaydedildi. Postero-anterior akciğer grafileri çekildi. Arteriyel kan gazları analizleri ABL 330 kan gazları analizatöründe, brakial veya radial arterden heparinli enjektöre 0.25-0.5 cc kan alınarak değerlendirildi.

Pulmoner hemodinamik inceleme: Olguların tümüne hemodinamik inceleme stabil oldukları dönemde, sabah, hafif bir kahvaltı sonrası, Grandjean mikrokater yöntemi ile uygulandı. İnceleme, hasta sırtüstü yatar pozisyonda ve sessiz bir ortamda uygulandı. "0" noktası olarak sternal açının 5 cm altı alındı. Kateter uygulanan olgularda, ön kol venlerinden birine (v. basilica interna, externa veya antekübital ven) girilerek basınç değerleri alındı. Sağ kalp kavite (sağ atrium, sağ ventrikül) basınçları ve pulmoner arter basınçları (sistolik, diastolik ve ortalama) ölçüldü. Pulmoner arter basınç trasesi görüldükten sonra, basıncın en az 3 solunum siklusu stabil seyrettiği değer kaydedildi.

İncelemeye alınan tüm olgular, hemodinami sonuçlarına göre pulmoner hipertansiyonu olmayan (grup 1) ve pulmoner hipertansiyonu olan (grup 2) olarak ayrıldı. Hemodinamik inceleme sırasında pulmoner arterden ve eş zamanlı olarak periferik venden inceleme için 2-4 ml. kan örneği alındı.

Ortalama PAB değeri 20 mmHg'nın üstünde olan olgular pulmoner hipertansif kabul edildi.

Hemodinamik inceleme yapılan 26 olgunun 17'sinde pulmoner hipertansiyon saptanırken, 9 olguda ortalama PAB normal sınırlarda bulundu.

Kontrol grubu: Hasta grubuna uygun yaş grubunda, sigara içen 10 sağlıklı gönüllü bireyden kontrol grubu için *periferik venöz kan* örnekleri alındı.

Endotelin Düzey Ölçümü: ET-1 için, hemodinamik inceleme sırasında pulmoner arterden ve eş zamanlı olarak periferik venden, 2-4 ml. arasındaki kan örnekleri %4 EDTA ve 2000 KIU aprotinin (trasyolol) içeren polipropilen tüplere alındı. Santrifüje edilene dek buz torbasında tutuldu. Daha sonra +4°C'de 2000 g'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek, ayrılan plazma inceleme zamanına dek -20°C de derin dondurucuda bekletildi.

Plazma ET-1 düzeyi radio immün assay (RIA) yöntemi ile belirlendi (Kit: Endothelin-1,2 (¹²⁵I) assay system with Amerlax-M magnetic separation, Amersham International pic, United Kingdom). ET-1 kolon ekstraksiyonu, trifluoroasetik asit (TFA), metanol ve distile su ile aktive edilmiş C18, 500 mgr. minikolonlarla (Amprep minicolumn, C18, 500 mgr.) ile yapıldı. Daha sonra anti ET-1,2 ile RIA işlemine tabi tutularak pikomol/desilitre (pmol/dlt) birimi üzerinden ET-1 düzeyi saptandı.

İstatistiksel Analiz: Hasta gruplarında bakılan endotelin düzeyleri ve pulmoner arter basınçları değerlerinin normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorow-Smirnow testi ile yapıldı. Bu parametrelerin normal dağıldığı saptanınca, gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız 2 grup t testi kullanıldı. Tüm parametreler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon testi ile incelendi. Korelasyon gösteren parametreler, lineer ilişkinin derecesi ve önemi açısından regresyon testi ile değerlendirildi. İstatistiksel fark 0.05 ve altında olan p değerleri için anlamlı kabul edildi. Tüm sonuçlar ortalama±standart deviasyon (SD) olarak ifade edildi. İstatistik değerlendirmeler, Windows 3.1 ortamında çalışan istatistik paket program "SPSS v 5.01" ile yapıldı.

BULGULAR

Grupların genel özellikleri Tablo 1'de görülmektedir.

Olguların özellikleri: Grup 1'de yaş ortalaması 54.2±7.0 yıl (min: 46, max: 66) iken, grup 2'de ortalama yaş 61.1±11.4 (min: 44, max: 73) idi. Kontrol grubunda yaş ortalaması 53.2±7.8 yıl (min: 42, max: 62) ve sigara içimi 30.1±10.3 paket-yıl idi. Her üç grupta yaş, hastalık süresi ve sigara içimi yönünden fark yoktu.

Tablo 1: Grup 1 ve 2'deki olguların özellikleri izlenmektedir.

Değişken	Grup1 (n: 9)	Grup 2 (n: 17)
Yaş	54.2±7.0	61.1±11.4
Sigara (Paket/yıl)	34.1±16.2	32.1±27.5
Hastalık süresi (Yıl)	4.7±3.0	6.7±3.8
PAB ort (mmHg)	16.1±1.4	24.8±4.2 *
PAB sis (mmHg)	25.2±5.4	32.1±6.7 *
PAB dias (mmHg)	10.1±2.6	14.1±4.3 *
Ventrikül Basıncı	27.0±8.9 (n:3)	32.0±6.6 (n:10)
pH	7.42±0.0	7.43±0.0
pO ₂ (mmHg)	64.1±11.8	57.2±8.4
SaO ₂ (%)	90.2±6.1	86.7±5.4
pCO ₂ (mmHg)	40.8±7.1	42.5±5.9

* p< 0.05 (iki grup arasındaki fark anlamlı)

Pulmoner hemodinamik inceleme: Her iki grubun hemodinamik özellikleri incelendiğinde: Grup 1'de ortalama PAB değeri 16.1±1.4 mmHg (min: 13, max: 17) ile pulmoner arter basınçları normal sınırlarda idi. Grup 2'de ise ortalama PAB 24.8±4.2 mmHg (min: 20, max: 31) ile hafif dereceli pulmoner hipertansiyon olduğu gözlemlendi.

Her iki grubun özellikleri karşılaştırıldığında, grup 2'de pulmoner arter basınçları (ortalama, sistolik, diastolik), grup 1'den anlamlı olarak yüksekti.

Endotelin düzeyi:

Kontrol ve hasta grubuna ait ET-1 düzeyleri Tablo 2'de görülmektedir:

Kontrol grubu ve KOAH'lı olgularda periferik ven ET-1 düzeyleri arasında fark yoktu. Grup 1'de pulmoner arter ile periferik ven ET-1 düzeyi arasında fark saptanmadı (p=0.331). **Grup 2'deki pulmoner arter ortalama ET-1 düzeyi;**

- Kontrol grubu periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden,
- Grup 1 periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden,
- Grup 1 pulmoner arter ortalama ET-1 düzeyinden,
- Grup 2 periferik ven ortalama ET-1 düzeyinden,

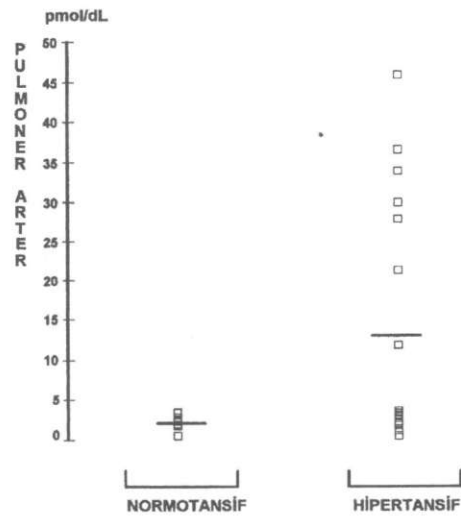
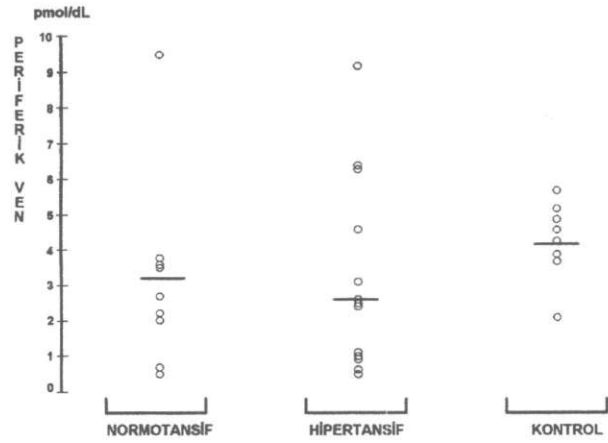
anlamlı olarak farklı bulundu (p<0.05) (Şekil 1).

Korelasyon: ET-1 düzeyi ile pulmoner arter basınçları, Pa O₂ arasında korelasyon gözlemlenmedi.

Tablo 2: Grup 1 ve 2'de pulmoner arter ve periferik ven Endotelin düzeyleri görülmektedir.

Hasta grubu	ET-1* (Pulmoner arter)	ET-1 (Periferik ven)	p
Grup	12.2±0.4	3.2±0.7	0.331
Grup 2	13.6±3.7	2.7±0.5	0.012
Kontrol		4.4±0.1	

* ET-1 düzeyi= pmol/dlt



Şekil 1. Grup 1 ve 2'deki pulmoner arter ve periferik ven Endotelin-1 düzeylerinin dağılımı izlenmektedir.

TARTIŞMA

KOAH'ta belli morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler sonucu pulmoner hipertansiyon oluşur (5). Morfolojik bozulmalar sonucu oluşmuş obstrüksiyon nedeniyle ventilasyonun bozulması hipoksemi

ile birlikte hava yolu rezistansında artışa yol açar. Hipoksemi pek çok mekanizma ile pulmoner vasküler rezistansı artırarak pulmoner hipertansiyona yol açar (6,7). Amfizemde görüldüğü gibi, alveol harabiyeti ile birlikte pulmoner vasküler yatağın harabiyeti pulmoner hipertansiyonun diğer nedenlerindedir. Ancak KOAH'ta kalıcı pulmoner hipertansiyondan, tetikleyici faktörlerden ziyade (hipoksi, alveolar destrüksiyon, mekanik etkiler, vb.) media tabakasındaki kas hipertrofinin sorumlu olduğunu kabul edilmektedir (8,9).

Endotel fonksiyon bozukluğu pulmoner hipertansiyon patogenezi için yeni araştırılan konulardandır. Pulmoner hipertansiyonda endotelden NO ve prostasiklin gibi vazodilatör özelliği bilinen ürünlerin salınımında defekt olması ve ortama ET-1 salınması pulmoner vazokonstriksiyona neden olur. NO'in salınımındaki defekt, bu ürünün ET-1 üzerine sağladığı inhibitör etkisini de azaltmakta ve bu da ET-1 salınımına yardımcı olmaktadır (1,2,3).

Endotelin bugün için vücutta bilinen en vazokonstriktör üründür. Son yıllarda çeşitli patolojilerdeki rolü üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (8,10,11).

Önceki yıllarda serum ET-1 yüksekliğinin patogenezi tam anlaşılamamışken, günümüzde, özellikle son 4 yılda yapılan, gerek hayvan gerekse insan çalışmaları bu konuya daha açıklık kazandırmıştır.

Daha önceki bazı çalışmalarda pulmoner hipertansif olgularda serum ET-1 düzeyi yüksek bulunmuştur. ET-1 yüksekliğinin patogenezi olası rolü, doku çalışmaları ve lokal ET-1 düzeylerine bakılma gerekliliğini beraberinde getirmiştir. Bu doğrultuda yapılan araştırmalarda patogenezi açıklayabilecek sonuçlar elde edilmiştir. Pulmoner hipertansiyonda düzeyinin yüksek oluşu, ET-1'in endotelden lokal salınımında artış ya da klerensinde azalma şeklinde açıklanmıştır. Yine KOAH'lı olgularda serum düzeyi normal olmasına karşın, akut alevlenme ve stabil dönemdeki idrar ET-1 düzeyleri kontrole göre artmış bulunmuştur. Bu da KOAH'ta ET-1'in renal yolla atılımının arttığını göstermektedir (12).

Stewart ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, pulmoner hipertansiyonlu 27 olguda (7 primer, 20 sekonder) periferik ven ve arter ET-1 düzeyi kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Venöz ve arteriyel kan örneklerinde ET-1 düzeyi yönünden fark bulunmamıştır. ET-1 düzeyi ile hipoksi ve pulmoner arter basıncı arasında kore-

lasyon bulunmamıştır (13). Cody ve arkadaşları, pulmoner hipertansiyon gelişmiş kronik konjestif kalp yetmezliğinde, venöz plazma ET-1 düzeyini kontrole göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Burada bir önceki çalışmadan farklı olarak ET-1 düzeyi arttıkça pulmoner hipertansiyonun ve pulmoner vasküler rezistansın arttığı gösterilmiştir (14).

Plazma örneklerinde çalışılan ET-1 düzeyi yanısıra patogenezi aydınlatmak için yapılan immün boyama yöntemleri ile doku çalışmaları konuya daha açıklık getirmiştir. Buna örnek olan bir çalışmada, 11 pleksojenik, 17 sekonder pulmoner hipertansiyonlu olguda pulmoner arterde ET-1 benzeri immün reaktivite bakılmıştır. Kontrol grubunda herhangi bir değişim gözlenmezken, pulmoner hipertansiyon grubunda ET-1 benzeri immün reaktivitenin arttığı, beraberinde pulmoner arterin intima ve media tabakasında kalınlaşma olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlarla pulmoner hipertansiyonda ET-1 salınımının arttığı düşünülmüştür (15).

Sonuçlarımıza göre, pulmoner hipertansiyonu bulunan olgularda (grup 2), pulmoner arter kanındaki ET-1 düzeyi, periferik vene ve kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.05$). Grup 2'de periferik ven ET-1 ile kontrol grubu arasında fark yoktu ($p > 0.05$). Pulmoner hipertansiyonu bulunmayan KOAH'lı olgularda, hem periferik ven hem de pulmoner arter ET-1 düzeyi ile kontrol grubu ET-1 düzeyi arasında fark yoktu ($p > 0.05$). Bu sonuç, ET-1'in pulmoner hipertansiyonda lokal salınımını desteklemektedir. Pulmoner hipertansif olgularda periferik ven ET-1 düzeyi ile kontrol grubu sonuçları benzer bulundu. KOAH'ta ET-1'in üriner atılımının artması ve ET'lerin başlıca klerens yerinin akciğer olması bu sonucu açıklayabilir özelliktedir.

Çeşitli araştırmacılar daha doğru yorumlara ulaşmak için pulmoner arter ve diğer lokal örneklerden kan alınarak ET-1 düzeyinin çalışılması gerektiğini belirtmişlerdir. Farklı çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmesinin nedeni olarak, yöntem farklılığı, kullanılan kitle bağlı özellikler, seçilen hasta populasyonu ve sayısı ile pulmoner hipertansiyon yapan farklı patolojilerde farklı ek mekanizmaların da devreye girmesi söz konusu olabilir.

Pulmoner hipertansif olgularda, pulmoner arterde ET-1 benzeri immünreaktivitenin ve ET-1 m-RNA gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da pulmoner arter kanında ET-1

düzeyinin yüksek bulunuşu, ET-1'in lokal olarak salgılandığını desteklemektedir.

Çalışmamızda pulmoner hipertansiyon düzeyi ile ET-1 düzeyi arasında bir korelasyon bulunmadı. Cody ve arkadaşları konjestif kalp yetmezlikli olgularda pulmoner hipertansiyon ile serum ET-1 düzeyi arasında ilişki bulmalarına karşın (14), Stewart ve arkadaşları çeşitli nedenlerle oluşmuş pulmoner hipertansiyonda bu ilişkiyi gösterememişlerdir (13). Bu da, farklı nedenlerle oluşmuş pulmoner hipertansiyonun artmasından diğer faktörlerin de sorumlu olduğunu ve/veya doğrusal bir ilişkinin söz konusu olmadığını düşündürmektedir. Çalışmamızda pulmoner hipertansiyonlu olguların hafif dereceli pulmoner hipertansiyonlu oluşu bu korelasyonun bulunmayışının bir diğer nedeni olabilir.

Akut ve kronik hipoksi ile ET-1 salınımının uyarıldığı çeşitli deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. (16,17). Çalışmamızda, ET-1 düzeyi yüksek olmakla

birlikte hipoksi ile arasında korelasyon yoktu. Çeşitli hayvan deneylerinde hipoksinin ET-1 salınımını arttırdığının gösterilmesi, hipoksinin ET-1 sentezini indüklediği ancak hipoksinin derinleşmesinin ET-1 düzeyini daha fazla etkilemediği şeklinde yorumlanabilir. Ancak olgu sayımızın sınırlı olması bu konuda kesin yoruma varmamızı engellemektedir.

Sonuçta ilk kez 1988 yılında Yanagisawa (18) tarafından tanımlanmış, çeşitli patolojilerdeki rolü giderek daha anlaşılır olan ET'ler ile ilgili olarak, bu çalışmalarda amacımız ne olmalı sorusu sorulmalıdır. Kendi konumuz gereği, artık pulmoner hipertansiyon patogenezinde ET-1'in rolü daha anlaşılır durumdadır. Bundan sonra pulmoner hipertansiyon ve ET'nin rolü tanımlanmış olduğu diğer durumlarda, amaç tedaviyi yönlendirmek olmalıdır. Gelecekte ET veya ET reseptör antagonistlerinin uygulanıma girmesi pulmoner hipertansiyonda ümit verici sonuçlar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Barnes PJ, Belvisi GB. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993; 48: 1034-43.
2. Higenbottam T. Pathophysiology of pulmonary hypertension: A role for endothelial dysfunction. *Chest* 1994; 105: 7S-10S.
3. Lerman A, Burnett JC Jr. Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation* 1992; 86 (6 Suppl): 12-9.
4. American Thoracic Society: Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 225-43.
5. Macnee W. Pathophysiology of cor pulmonale in chronic obstructive pulmonary disease, part 1. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 833-52.
6. Harris P, Heath D. Pulmonary hemodynamics in chronic bronchitis and emphysema. The human circulation, 3rd ed. London: Churchill Livingstone, 1986: 522-41.
7. Karabıyıkoglu G. Kronik obstrüktif akciğer hastalıklarında pulmoner hemodinami. *Tüberküloz ve Toraks (Özel sayı)* 1993; 41: 17-32.
8. Filep JG. Endothelin peptides: Biological actions and pathophysiological significance in the lung. *Life Sciences* 1992; 52: 119-33.
9. Fishman AP. Pulmonary hypertension. In: James WB, Smith LH Jr, Bennett JC, eds. *Cecil Textbook of medicine*, 19th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994; 269-79.
10. Luscher TF, Wenzel RR. Endothelin and endothelin antagonists: pharmacology and clinical implications. *Agents Actions Suppl* 1995; 45: 237-53.
11. Sakurai T, Goto K. Endothelins: Vascular actions and clinical implication. *Drugs* 1993; 46: 795-804.
12. Sofia M, Mormile M, Faraone S, et al. 24-hour endothelin-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 1994; 61:263-8.
13. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease. *Ann Intern Med* 1991; 114: 464-9.
14. Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R. Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* 1992; 85: 504-9.
15. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, et al. Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; 328: 1732-39.
16. Allen SW, Chatfield BA, Koppenhafer SA, Schaffer MS, Wolfe RR, Abman SH. Circulating immunoreactive endothelin-1 in children with pulmonary hypertension. Association with acute hypoxic pulmonary vasoactivity. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 519-22.
17. Rosenburg AA, Kennaugh J, Koppenhafer S, et al. Elevated immunoreactive endothelin-1 levels in newborn infants with persistent pulmonary hypertension. *J Pediatr* 1993; 123: 109-14.
18. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5.