



รายงานการวิจัย

ผลของสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับแองจิโอเทนซินต่อความต้านทาน
ของหลอดเลือดในไตของหนูขาว

The Effects of Angiotensin-II Receptor Antagonist
on Rat Renal Vascular Resistance

โดย

แพทย์ หิรัญพันธุ์

ชำนาญ สุกัทรวิวัฒน์

ศิริพันธุ์ หิรัญชะชาติธาดา

สมอ

เลขที่	PP542.054 พ.ร.บ. 2521 ๑ (ก. 1
Ref Key	๒๒๒๕๕

ภาควิชาสรีรวิทยา

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์

บทคัดย่อ

เรื่อง: ผลของสารออกฤทธิ์ด้านตัวรับแองจิโอเทนซินต่อความต้านทานของหลอดเลือดในไตของหนูขาว

ผู้วิจัย: เพทาย หิรัญพันธ์, อำนงค์ สุภัทราวิวัฒน์ และศิริพันธ์ หิรัญญะชาติธาดา

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนแองจิโอเทนซิน II (AII) ต่อ renal perfusion pressure และ renal vascular resistance ใน isolated rat kidney โดยใช้สารออกฤทธิ์ด้านตัวรับ AII ที่จำเพาะเจาะจงต่อตัวรับประเภท AT₁ (candesartan หรือ CV 11974) ทำการทดลองในหนูขาวสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ มาทำให้สลบแล้วตัดไตข้างซ้ายออกมาศึกษาโดยวิธี isolated perfused kidney ในการทดลองหาผลของ AII ต่อ renal perfusion pressure จะใช้ perfusion flow rate คงที่ที่ 3.5 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นจึงป้อนสารละลายเครบส์ (Kreb's Helseleit solution) ที่มีความเข้มข้นของ AII ขนาด 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ที่ละขนาดตามลำดับเข้าทาง renal artery พบว่า AII ทั้งสามขนาดทำให้ renal perfusion pressure เพิ่มขึ้น 33 ± 6 , 63 ± 12 , และ 96 ± 16 มิลลิเมตรปรอทจากค่า basal perfusion pressure (94 ± 8 มิลลิเมตรปรอท) การทดลองโดยป้อนสารละลายเครบส์ผสม candesartan ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาที พบว่าไม่มีผลต่อค่า basal perfusion pressure แต่เมื่อทดสอบโดยใช้ AII ทั้งสามขนาดข้างต้น พบว่าค่า renal perfusion pressure ลดลงร้อยละ 39, 47 และ 61 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ ส่วนการทดลองผลของ AII ต่อ renal vascular resistance ทำโดยการป้อนสารละลายเครบส์ที่มีความเข้มข้นของ AII ขนาด 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ที่ละขนาดตามลำดับด้วย perfusion flow rate ที่ทำให้ renal perfusion pressure มีค่าคงที่ระหว่าง 80-120 มิลลิเมตรปรอท พบว่าขนาดของ AII ที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่า renal vascular resistance เพิ่มขึ้น 14 ± 1 , 18 ± 2 , และ 20 ± 2 มิลลิเมตรปรอท นาทีต่อมิลลิลิตรจากค่า basal perfusion pressure (27 ± 2 มิลลิเมตรปรอท นาทีต่อมิลลิลิตร) แต่ในการทดลองที่ให้ candesartan ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาทีก่อนให้ AII ที่ความเข้มข้นเดิมทั้งสามขนาด พบว่าค่า renal vascular resistance ที่เกิดจาก AII ของแต่ละความเข้มข้นลดลงร้อยละ 38, 48 และ 42.7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าให้ candesartan ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและทดลองเช่นเดียวกับข้างต้นสามารถยับยั้งผลของ AII ทั้งสามขนาดต่อการหดตัวของหลอดเลือดในไตได้อย่างสมบูรณ์ จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ AII ที่ทำให้หลอดเลือดแดงหดตัวใน isolated perfused rat kidney จะทำงานผ่านทางตัวรับประเภท AT₁

Abstract

Title: The Effects of Angiotensin-II Receptor Antagonist on Rat Renal Vascular Resistance

Author: Hiranphun, P., Supatraviwat, J. and Hiranyachattada, S.

The present study aimed to investigate the action of angiotensin II (AII) on renal perfusion pressure and renal vascular resistance using noncompetitive AT₁-receptor antagonist (candesartan or CV 11974). Experiments were performed in isolated kidney of adult male Wistar rats. Kreb's Henseleit solution was perfused into renal artery at the rate of 3.5 ml/min. This flow rate was designed in order to maintain renal perfusion pressure between 80-120 mmHg. Dose-response relationship between perfusion flow rate and AII were studied. Renal perfusion pressure in response to AII (at the concentrations 1, 10 and 100 nM) were increased from basal perfusion pressure (94 ± 8 mmHg) to 33 ± 6 , 63 ± 12 and 96 ± 16 mmHg, respectively. Administration of 5 μ g/ml candesartan into the perfusate and allow 30 min perfusion, had no effect on the basal perfusion pressure. However, this significantly reduced renal perfusion pressure in the presence of AII (1, 10 and 100 nM) by 39%, 48% and 61%, respectively. ($P < 0.05$, $n = 7$) At the basal perfusion pressure, calculated renal vascular resistance was 27 ± 2 mmHg min ml⁻¹. However, these values were found to be 14 ± 1 , 18 ± 2 and 20 ± 2.0 mmHg min ml⁻¹ when 1, 10 and 100 nM AII were added. Moreover, this dose of candesartan also showed the significantly decrease in renal vascular resistance in the corresponding doses of AII by 38%, 48% and 43%, respectively. The higher dose of candesartan (10 μ g/ml) completely inhibited the action of 1, 10 and 100 nM AII on renal vasoconstriction. These results indicated the action of AII on renal vascular resistance is via AT₁-receptor at least in isolated perfusion kidney.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(ก)
บทคัดย่อ	(ข)
Abstract	(ค)
สารบัญ	(ง)
สารบัญภาพ	(จ)
สัญลักษณ์และคำย่อ	(ฉ)
บทนำ	1
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	3
ผลการทดลอง	8
อภิปรายผลการทดลอง	14
สรุป	16
บรรณานุกรม	17

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	แสดงสูตร โครงสร้างของ CV 11974 และ ซึ่งพัฒนามาจาก candesartan cilexetil (TCV-116)	2
2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง renal perfusion pressure กับ perfusion flow rate	9
3	แสดงผลการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ของหลอดเลือดภายในไต ที่ตอบสนองต่อ AII และ candesartan	10
4	แสดงตัวอย่างเส้นบันทึกผลการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ของหลอดเลือดภายในไตที่ตอบสนองต่อ AII และ candesartan	11
5	แสดงผลการเปลี่ยนแปลง renal vascular resistance ที่ตอบสนองต่อ AII และ candesartan	13

สัญลักษณ์และคำย่อ

%	=	percent
2K1C	=	two – kidney, one clip renal hypertensive rat
ACE	=	angiotensin converting enzyme
AI	=	angiotensin I
AI	=	angiotensin II
ANOVA	=	analysis of variance
AT _{1,2} -receptor	=	angiotensin II receptor type I, II
Candesartan cilexetil (TCV-116)	=	AT ₁ -receptor antagonist
CV, CV 11974	=	AT ₁ -receptor antagonist
EC ₅₀	=	effective concentration
FF	=	filtration fraction
g.	=	gram
GFR	=	glomerular filtration rate
l	=	litre
mg.	=	milligram
min.	=	minute
ml.	=	millilitre
ml ⁻¹	=	per millilitre
mmHg	=	millimetre mercury
nM	=	nanomolar
PE.50	=	polyethylene tube (number 50)
r	=	correlation value
RAS	=	renin – angiotensin system
RPF	=	renal plasma flow
SEM	=	standard error of of mean value
SHR	=	spontaneously hypertensive rat

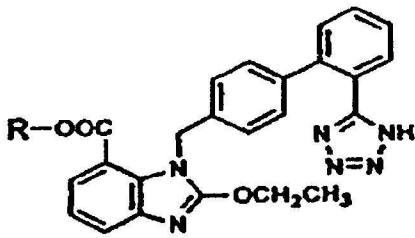
บทนำ

แองจิโอเทนซิน II (angiotensin II หรือ AII) เป็นฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์ในระบบเรนิน-แองจิโอเทนซิน (renin-angiotensin หรือ RAS) โดยมีเรนินทำหน้าที่เป็นตัวเปลี่ยนแองจิโอเทนซิโนเจน (angiotensinogen) ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่สร้างจากตับให้เป็นแองจิโอเทนซิน I (angiotensin I หรือ AI) ต่อมา AI จะถูกเปลี่ยนเป็น AII โดย angiotensin converting enzyme (ACE) ที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือด สำหรับที่ไตนั้น AII สามารถออกฤทธิ์ต่อการไหลเวียนเลือดที่ไต (renal haemodynamics) โดยทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstriction) เป็นผลให้อัตราการไหลเวียนเลือดภายในไต (renal blood flow หรือ RBF) ลดลงและมีผลเปลี่ยนแปลงอัตราการกรองของไต (glomerular filtration rate หรือ GFR) สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของ AII นั้น อาจเป็นไปได้ว่า AII มีผลต่อหลอดเลือดแดง afferent arteriole และ efferent arteriole เกิดการหดตัวทำให้ลดทั้ง RBF และ GFR ได้

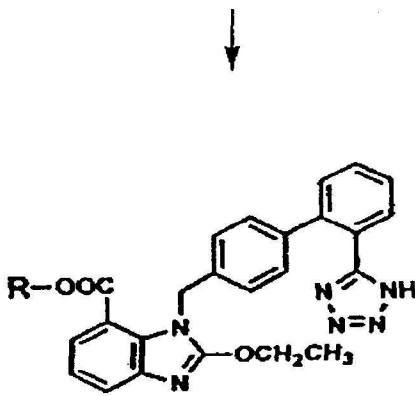
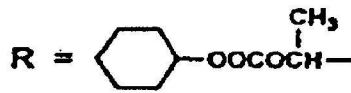
การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ AII นั้นทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารยับยั้งการทำงานของ ACE หรือการใช้สารออกฤทธิ์ต้านตัวรับของ AII (angiotensin II receptor antagonist) (Johnson et al., 1984; Tsuyuki et al., 1997; Rizzoni et al., 1998; Weber, 1998) สำหรับการศึกษาการออกฤทธิ์ของ AII โดยใช้สารออกฤทธิ์ต้านตัวรับนั้น สามารถจำแนกสารดังกล่าวตามการทำงานผ่านตัวรับ (receptor) ของ AII ซึ่งปัจจุบันแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามลักษณะของยาหรือสารที่เฉพาะเจาะจงกับตัวรับนั้นๆ ตัวรับประเภทที่หนึ่งคือ AT_1 ซึ่งจะไวต่อสารพวก losartan, valsartan, eprosartan, irbesartan, telmisartan และ candesartan สำหรับตัวรับประเภทที่สองคือ AT_2 ซึ่งจะไวต่อสารพวก PD compound เช่น PD123177, PD123319, PD124125 และ CGP42112 (Chiu et al., 1989; Timmermans et al., 1993) สำหรับเนื้อเยื่อและอวัยวะที่พบว่ามีตัวรับชนิด AT_1 ได้แก่ กล้ามเนื้อเรียบ หลอดเลือด, หัวใจ, สมอง, ไตและต่อมหมวกไต ส่วนตัวรับชนิด AT_2 พบได้ที่สมอง, มดลูก และต่อมหมวกไต สำหรับที่ไตนั้นร้อยละ 90 ของตัวรับเป็นชนิด AT_1 และร้อยละ 10 เป็นชนิด AT_2 (Timmermans et al., 1993; Zhang et al., 1993)

losartan เป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับชนิด AT_1 ตัวแรกที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ต่อมาจึงได้พัฒนามาเป็น candesartan cilexetil (TCV-116) และ candesartan (CV 11974) ซึ่งเป็นพวก non-peptide สำหรับ candesartan cilexetil เป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับชนิด AT_1 ชื่อทางเคมีคือ (±)-1-(cyclohexyloxycarbonyloxy)-ethyl 2-ethoxy-1-[[2-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl] methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylate (Shibouta et al., 1993; Nishikawa et al., 1994) ใช้เป็นยากินเพื่อลดภาวะความดันเลือดสูงทั้งในคนและในสัตว์ทดลอง (Shibouta et al., 1992; Kubo et al., 1993; Inada et

al., 1994) ส่วน candesartan ชื่อทางเคมีคือ 2-ethoxy-1-[[2-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl] methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylic acid (Noda et al., 1993; Shibouta et al., 1993) สามารถใช้ในการศึกษาแบบ in vivo (โดยการฉีด) และใช้ศึกษาแบบ in vitro (โดยการละลายใน physiological fluid) สูตรโครงสร้างของ candesartan ทั้งสองประเภท ดังแสดงในรูปที่ 1



Candesartan cilexetil
(TCV-116)



CV-11974



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้าง candesartan (CV 11974) ซึ่งพัฒนามาจาก candesartan cilexetil (TCV-116) (คัดแปลงจาก: Shibouta et al., 1993; Kondo et al., 1996)

ปัจจุบันการศึกษางานของ AII โดยใช้ candesartan เป็นไปอย่างกว้างขวาง ในการศึกษาฤทธิ์ของ AII ต่อหลอดเลือดแดงนั้นพบว่า candesartan มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดแดงขยายตัว (vasodilation) ด้านการทำงานของ AII และลดความดันเลือดได้ในหนูปกติและหนู spontaneously hypertensive rats (SHR) (Kanakawa et al., 1997) จากการศึกษาอื่นๆ พบว่า candesartan มีฤทธิ์ด้านการเพิ่มความดันเลือดแดงเฉลี่ยที่ตอบสนองต่อ AII ในหนูขาวที่ศึกษาทั้งแบบ in vivo และ in vitro (Cervenka et al., 1998; Champion et al., 1998) และมีฤทธิ์ด้านการเพิ่มความดันภายในหลอดเลือดกล้ามเนื้อบริเวณขาหลัง (hindquarter perfusion pressure) ที่ตอบสนองต่อ AII ในหนูขาว (Champion et al., 1998) และในหลอดเลือด mesenteric vascular beds ของแมว (Champion and Kadowitz, 1997) นอกจากนี้ยังพบว่า candesartan ในขนาดที่ทำให้ความดันเลือดลดลงนั้น มีฤทธิ์ลด RBF และ GFR,

ลดการขับทิ้งโซเดียม (sodium excretion) และลดการขับถ่ายปัสสาวะ (urine flow) แต่ candesartan ในขนาดที่ไม่ทำให้ความดันเลือดเปลี่ยนแปลงกลับมีผลทำให้มีการขับทิ้งโซเดียมมากขึ้น ในขณะที่ RBF และ GFR ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัด (Cervenka et. al., 1997) ซึ่งการทดลองดังกล่าวทำให้ไม่ทราบแน่ชัดว่า candesartan มีผลอย่างไรในการควบคุม RBF เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง renal hemodynamic จะมีผลกระทบต่อ RBF ก่อน นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงผลของ candesartan ต่อการควบคุม RBF จากการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตโดยรวม (total renal vascular resistance) โดยเฉพาะใน isolated perfused rat kidney

การศึกษาค้างนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ candesartan (CV 11974) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับแองจิโอเทนซิน II ต่อความต้านทานรวมของหลอดเลือดภายในไต (renal vascular resistance) เพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมความรู้เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของ AII ต่อการควบคุมอัตราการไหลเวียนเลือดที่ไต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้หนูขาว (Wistar rats) เพศผู้ น้ำหนักตัวระหว่าง 250-350 กรัม จากหน่วยเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หนูทั้งหมดเลี้ยงในสภาพที่เหมือนกันโดยการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปและน้ำประปาสะอาดอย่างไม่จำกัดปริมาณภายในห้องปรับอากาศ อุณหภูมิ 25°C และควบคุมปริมาณแสงให้มีสัดส่วนเวลามืดต่อสว่างเท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด (surgical set)
2. ชุดอุปกรณ์สำหรับอวัยวะที่แยกออกมาจากสัตว์ทดลอง (isolated organ bath)
ประกอบด้วย tissue chamber ขนาดเล็ก, circulating bath พร้อมชุดควบคุมอุณหภูมิ (thermoregulator) และอุปกรณ์ควบคุมปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (95% CO_2 และ 5% O_2)
3. Infusion pump (model 975A, Harvard, USA) และ Peristaltic pump (model miniplus 3, Gilson, USA)
4. ตัวแปลงสัญญาณความดันเลือด (pressure transducer) และเครื่องโพลีกราฟ (model 7, Grass, USA)
5. เครื่องดูดสารละลายอัตโนมัติ (autopipet) (eppendorf, Germany)

ยาและสารเคมี

1. physiological fluid เป็นสารละลายเครบส์ (Krebs' Henseleit solution; g/l :
NaCl, 6.92; KCl, 0.35; CaCl₂, 0.28; KH₂PO₄, 0.16; MgSO₄·7H₂O, 0.29;
NaHCO₃, 2.10; D-glucose, 2.0)
2. Angiotensin II, Sigma, USA
3. candesartan, Astra, Sweden
4. Heparin, Leo, Denmark
5. Sodium pentobarbitone, Sigma, USA

การเตรียมสัตว์ทดลอง

สลบสัตว์ทดลองด้วย sodium pentobarbitone 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมโดยฉีดเข้าช่องท้อง ผ่านแนวกลางท้องเปิดหาไตข้างซ้าย สอดท่อ polyethylene (PE 50) เข้าใน left renal artery และ vein แล้วใช้ infusion pump ป้อนสารละลายเครบส์ที่ควบคุมอุณหภูมิ 37°C และผ่านการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่อวัยวะไตทาง left renal artery เพื่อชะล้างเลือดภายในไตจนเกือบหมดโดยสังเกตว่าไตจะดูใสเนื่องจากไม่มีเลือดค้างอยู่ ตัดแยกไตข้างซ้ายออกจากตัวสัตว์ทดลองใส่ใน organ bath ที่บรรจุด้วยสารละลายเครบส์ 37°C ที่มีฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านสารละลายตลอดเวลา โดยวิธีการนี้จะได้ isolated perfused kidney ใน organ bath ที่สามารถให้สารละลายที่ต้องการศึกษาโดยใช้ peristaltic perfusion pump ผ่านทาง renal artery ได้

แผนการทดลอง

การทดลองประกอบด้วยการศึกษาทั้งหมด 4 ตอน แต่ละตอนใช้สัตว์ทดลองกลุ่มละ 4-9 ตัว

1. การศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า perfusion flow rate (โดยใช้เครื่อง peristaltic perfusion pump) กับค่า renal perfusion pressure

ในตอนแรกศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเร็ว (flow speed) ของเครื่อง peristaltic perfusion pump กับ perfusion flow rate ก่อน โดยเปิดเครื่อง peristaltic perfusion pump เพื่อป้อนสารละลายเครบส์ผ่านท่อ PE 50 ซึ่งเป็นขนาดเดียวกับที่ใช้สอดเข้าไปในหลอดเลือด renal artery ด้วยความเร็วต่ำสุดของเครื่อง เริ่มที่ความเร็ว 2.0 หน่วยแล้ววัดปริมาตรของสารละลายเครบส์ที่ถูกป้อนไปยังปลายท่อ PE ด้วยความเร็วดังกล่าว จากนั้นปรับความเร็วเพิ่มขึ้นครั้งละ 0.5 หน่วยจนกระทั่งถึง

ความเร็วสูงสุดของเครื่องคือ 7.0 หน่วยเพื่อหาปริมาตรของสารละลายครบสัที่มีด้วยความเร็วที่แตกต่างกันก่อน แล้วจึงหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า perfusion flow rate ที่คำนวณมาได้กับค่า perfusion pressure หลังจากเตรียม isolated perfused kidney เรียบร้อยแล้ว เริ่มบันทึกค่า perfusion pressure จากหลอดเลือด renal artery ที่ต่อกับ pressure transducer โดยแสดงผลบนเครื่องโพลีกราฟ เริ่มที่ความเร็ว 2.0 หน่วยเช่นกันจนได้การตอบสนองของ renal perfusion pressure ที่คงที่ แล้วปรับความเร็วของเครื่อง peristaltic perfusion pump เพิ่มขึ้นทีละ 0.5 หน่วยเช่นเดิมที่จะทำให้ได้ค่า perfusion pressure ขนาดต่างๆ กัน จากนั้นนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า perfusion flow rate กับค่า perfusion pressure

2. การศึกษาเพื่อหาค่า equilibration time และ time control experiment

หลังจากเตรียม isolated perfused kidney เรียบร้อยแล้ว ทำการทดลองโดยใช้ perfusion flow rate 3.5 มิลลิลิตรต่อนาที (Woodman et al., 1980) ที่ทำให้ perfusion pressure เท่ากับความดันเลือดปกติเข้าทาง renal artery บันทึกการเปลี่ยนแปลง perfusion pressure เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมงเพื่อหาช่วงเวลาที่ perfusion pressure เริ่มคงที่ (equilibration time) ซึ่งค่านี้จะนำไปใช้ในการทดลองอื่นๆ ต่อไป โดยจะเริ่มการทดลองหลังจากผ่านช่วงเวลา equilibration time ไปแล้ว ส่วนค่า perfusion pressure ที่ช่วงเวลา 1, 2 และ 3 ชั่วโมงจะนำมาเปรียบเทียบเพื่อดูค่าการเปลี่ยนแปลงว่าเป็นอย่างไร (time control experiment)

3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตต่อ AII โดยใช้ candesartan

หลังจากเตรียม isolated perfused kidney เรียบร้อยแล้ว เริ่มการทดลองโดยปั๊มสารละลายครบสั ด้วยค่า perfusion flow rate 3.5 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที (equilibration time) พร้อมกับบันทึกค่า perfusion pressure ตลอดการทดลอง แล้วจึงปั๊มสารละลายครบสัที่มี AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ ทีละขนาด โดยการปั๊มสารละลายครบสัที่มี AII ความเข้มข้นต่ำสุดก่อนจนเกิดการหดตัวตอบสนองสูงสุด แล้วจึงปั๊มสารละลายครบสัต่ออีกเป็นเวลา 5 นาที จนกระทั่งการหดตัวของหลอดเลือดกลับคืนสู่ภาวะปกติ ทำการทดลองซ้ำโดยใช้สารละลายครบสัที่มี AII ความเข้มข้น 10 และ 100 นาโนโมลาร์ตามลำดับโดยวิธีการเดียวกัน จากนั้นปั๊มสารละลายครบสัผสม candesartan ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้จับกับ receptor ของ AII (Ojima et al., 1997) ก่อนบันทึกการเปลี่ยนแปลง perfusion pressure ใหม่อีกครั้งขณะปั๊มสารละลายครบสัผสม candesartan และมี AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ ตามลำดับโดยวิธีการเดียวกัน นำค่า perfusion pressure ที่ได้มาหา maximum response ซึ่งเป็นการตอบสนองสูงสุดมา

คำนวณค่า EC_{50} และหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งฤทธิ์ของ AII (% inhibition) ภายหลังจากให้ candesartan โดยคำนวณดังนี้

% การยับยั้งฤทธิ์ของ AII = $(\text{perfusion pressure ก่อนให้สารยับยั้ง} - \text{perfusion pressure หลังให้สารยับยั้ง}) / \text{perfusion pressure ก่อนให้สารยับยั้ง} \times 100$

4. ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงความต้านทานของหลอดเลือดภายในไต (renal vascular resistance) ที่ตอบสนองต่อ AII ก่อนและหลังการให้ candesartan จากค่า renal perfusion pressure ที่เปลี่ยนไปเมื่อใช้ perfusion flow rate ต่างๆ

หลังจากเตรียม isolated perfused kidney เรียบร้อยแล้ว บันทึกค่า perfusion pressure จากการบีบสารละลายครบสผ่านทาง renal artery ด้วย perfusion flow rate ต่างๆ กันโดยทำให้ renal perfusion pressure มีค่าคงที่ในช่วง 80 - 120 มิลลิเมตรปรอท ภายหลังจาก equilibrate หลอดเลือดภายในไตด้วยสารละลายครบสด้วย perfusion flow rate นั้นๆ จนคงที่เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่า perfusion pressure เมื่อบีบสารละลายครบส ที่มี AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ ทีละขนาด โดยวิธีการเดียวกับข้อ 3 จากนั้นบีบสารละลายครบสเพื่อให้ค่า perfusion pressure กลับสู่ภาวะปกติเป็นเวลา 15 นาที แล้วบีบสารละลายครบสผสม candesartan ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาที บันทึกการเปลี่ยนแปลงค่า perfusion pressure ใหม่อีกครั้ง ขณะบีบสารละลายครบสผสม candesartan ที่มี AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ ตามลำดับโดยวิธีการเดียวกัน นำค่า perfusion pressure ที่ได้จากการใช้ perfusion flow rate ต่างๆ มาคำนวณหาความต้านทานของหลอดเลือดภายในไตดังนี้

ความต้านทานของหลอดเลือด (renal vascular resistance) = $\frac{\text{ความดันภายในหลอดเลือด (mean perfusion pressure)}}{\text{อัตราการไหลภายในหลอดเลือด (perfusion flow rate)}}$

การคำนวณและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลองจากค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบกับค่าเฉลี่ย (mean \pm SEM) ของการตอบสนองของหลอดเลือด (dose-response curve) และคำนวณหาค่า EC_{50} (effective concentration) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของยาที่ทำให้มีการตอบสนอง 50% ของการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของหลอดเลือดหาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของหลอดเลือดดังกล่าว (Diem and Leutner, 1970) ส่วนการหาค่าความ

แตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองใช้ Student's *t*-test และ ANOVA โดยจะยอมรับค่านัย
สำคัญทางสถิติที่ค่า $P < 0.05$

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า perfusion flow rate กับค่า perfusion pressure

จากการศึกษาพบว่า การเปลี่ยนแปลง perfusion flow rate (PFR) ของสารละลาย Krebs ที่ให้ผ่านหลอดเลือด renal artery จะมีความสัมพันธ์กันแบบ positive correlation กับการเปลี่ยนแปลงของ perfusion pressure (PP) คือเมื่อค่า perfusion flow rate เพิ่มขึ้น ค่า perfusion pressure จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรง โดยมีสมการความสัมพันธ์ $PP = 42.3 \text{ PFR} - 24.3$ และ $r^2 = 0.98$ ($P < 0.05$, $n=4$) ดังแสดงในรูปที่ 2

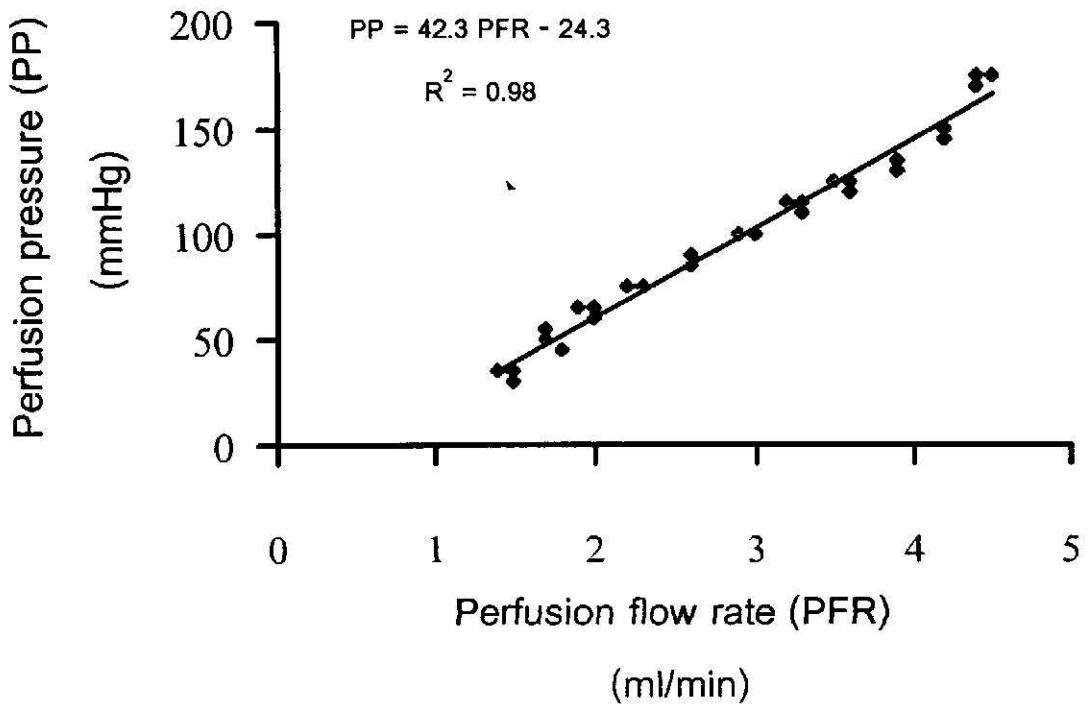
2. ผลการศึกษาหา equilibration time และ time control

จากการบีบสารละลาย Krebs ผ่าน renal artery ของ isolated perfused kidney ด้วย perfusion flow rate 3.5 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้ค่าของ renal perfusion pressure เริ่มต้นที่ใกล้เคียงกับค่าความดันเลือดปกติ จากการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของ renal perfusion pressure เมื่อเริ่มทำการทดลองเท่ากับ 113 ± 9 มิลลิเมตรปรอท ($n=15$) แล้วจะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งคงที่ที่ 94 ± 8 มิลลิเมตรปรอท ถือเป็นค่า basal perfusion pressure ที่ใช้เวลาประมาณ 15 นาที ดังตัวอย่างเส้นบันทึกการทดลองที่แสดงในรูปที่ 3 (ก) และถือค่านี้เป็นค่า equilibration time สำหรับการทดลองในครั้งต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าค่าของ renal perfusion pressure ดังกล่าวจะคงที่ตลอด 2-3 ชั่วโมง ($n=4$) หลังจากนั้นค่านี้ก็จะมีแนวโน้มที่จะอาจเกิดจากการเริ่มเสียดสภาพการทำงานของเนื้อเยื่อต่างๆ ภายในไต ดังนั้นการทดลองทั้งหมดต่อไปจะทำให้เสร็จสิ้นภายในเวลา 3 ชั่วโมง

3. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ต่อการตอบสนองต่อ AII ก่อนและหลังการใช้ candesartan

รูปที่ 3 แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดในไตต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ ก่อนและหลังการใช้ candesartan ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวอย่างผลการทดลองที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ แสดงไว้ในรูปที่ 4 (ข) และ (ค)

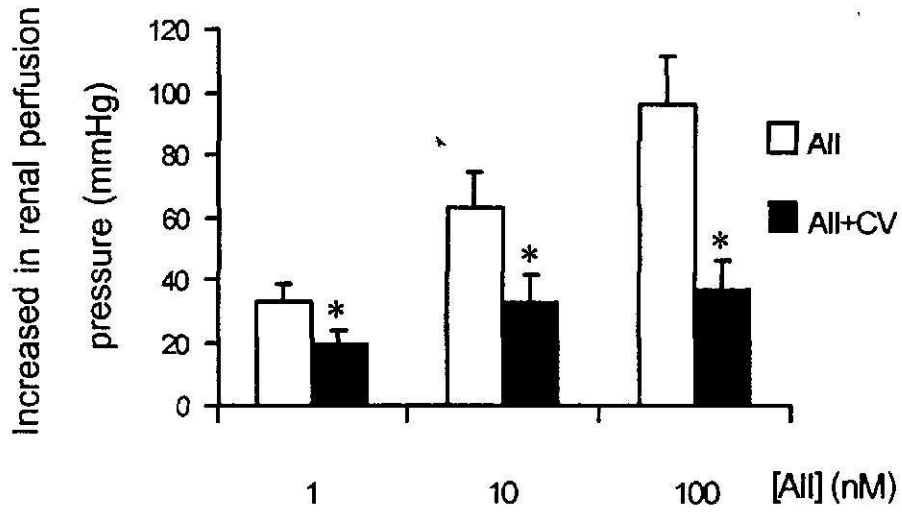
ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ที่ตอบสนองต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AII ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าค่า renal perfusion pressure เพิ่มขึ้นอีก 33 ± 6 , 63 ± 12 และ 96 ± 16 มิลลิเมตรปรอท จากค่า basal perfusion pressure ตามลำดับ ($n=7$, $P < 0.05$) และภายหลังจากบีบสารละลาย Krebs ผสม candesartan ขนาดความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาทีพบว่า candesartan ไม่ทำให้ค่า basal



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่าง renal perfusion pressure (PP) กับ perfusion flow rate (PFR)

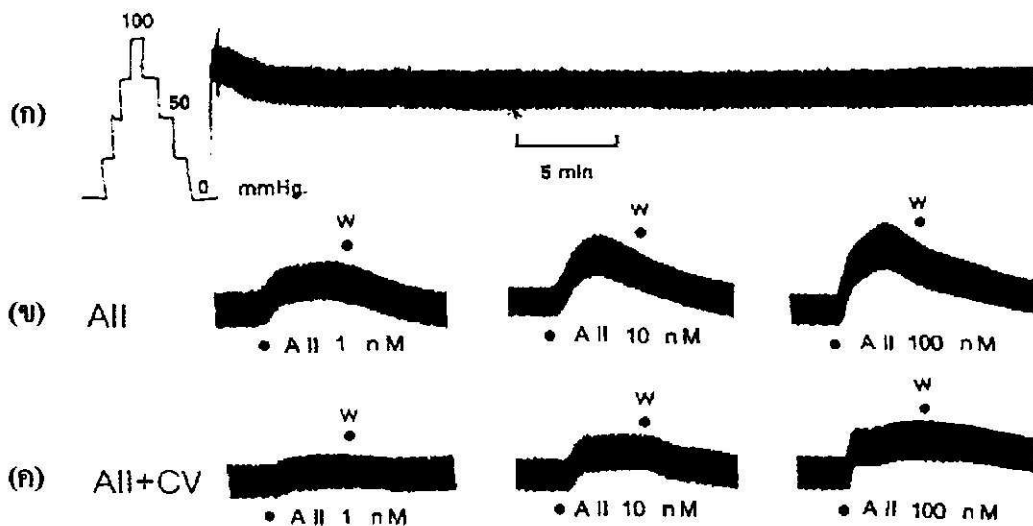
จากแผนภาพแสดง Regression analysis จะได้ $PP = 42.3 PFR - 24.3$, $r^2 = 0.98$

($P < 0.05$)



รูปที่ 3 แสดงผลการเปลี่ยนแปลง renal perfusion pressure ที่ตอบสนองต่อ AII และ candesartan (CV)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับ AII ที่ระดับ $P < 0.05$



รูปที่ 4 ตัวอย่างเส้นบันทึกผลการเปลี่ยนแปลง perfusion pressure ของหลอดเลือดภายในไตของหนูขาว (isolated perfused rat kidney) ที่ได้จากการบันทึกด้วยเครื่องโพลีกราฟ รูป (ก) แสดง basal perfusion pressure ของหลอดเลือด รูป (ข) แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 nM และรูป (ค) แสดงผลการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 nM เมื่อใช้ candesartan (CV) ความเข้มข้น 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

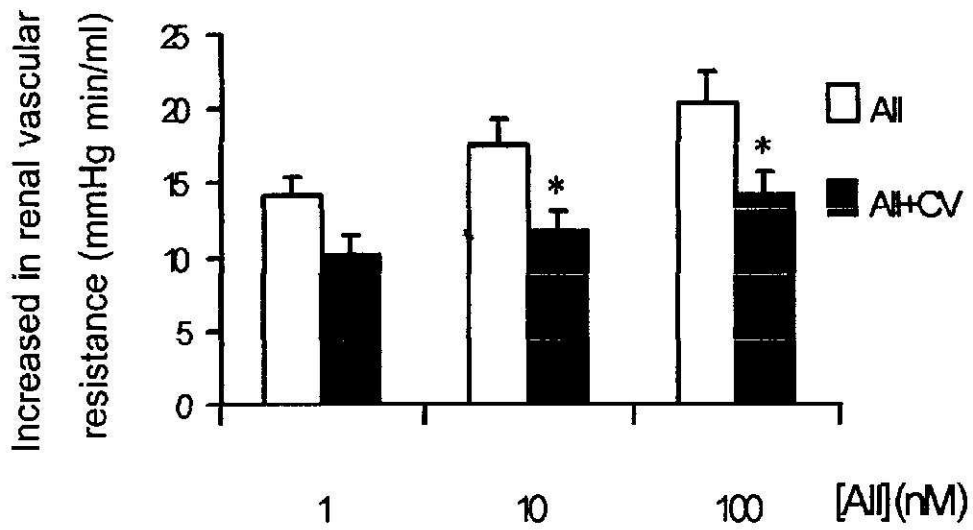
- คือปั๊มสารละลาย Krebs ที่มี AII ความเข้มข้นต่างๆ, ^W คือปั๊มสารละลาย Krebs

perfusion pressure เปลี่ยนแปลงแต่อย่างไร แต่เมื่อใช้ AII ทั้งสามขนาดอีกครั้งพบว่าค่า renal perfusion pressure ที่เกิดจาก AII นั้นลดลง 20 ± 4 , 33 ± 8 และ 38 ± 9 มิลลิเมตรปรอทจากค่า basal perfusion pressure อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ (n=6) หรือคิดเป็นร้อยละ 39, 47 และ 61 ตามลำดับ นอกจากนี้ candesartan ขนาดความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลลดการตอบสนองสูงสุด (maximum response) ของ AII จาก 96 ± 16 มิลลิเมตรปรอทเป็น 38 ± 9 มิลลิเมตรปรอท โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่า EC_{50} ของการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตต่อ AII ค่า EC_{50} จากการคำนวณเมื่อใช้ AII อย่างเดียว = 8.5 นาโนโมลาร์และเมื่อให้ AII+ candesartan = 9.4 นาโนโมลาร์

สำหรับการทดลองที่ใช้ candesartan ขนาดความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธีการเช่นเดียวกันพบว่ามีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตอย่างสมบูรณ์ต่อ AII ทั้ง 3 ความเข้มข้น (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง)

4. ผลการศึกษาค่าความต้านทานของหลอดเลือดภายในไต (renal vascular resistance) เมื่อให้ AII และเมื่อให้ AII+candesartan

จากการคำนวณพบว่าค่าความต้านทานของหลอดเลือดภายในไตจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AII คือเพิ่มขึ้น 14 ± 1 , 18 ± 2 และ 20 ± 2 มิลลิเมตรปรอท นาที่ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (จากค่า basal perfusion pressure 27 มิลลิเมตรปรอท นาที่ต่อมิลลิลิตร, n=9) ภายหลังจากป้อนสารละลายครบสี่ผสม candesartan ขนาดความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 30 นาทีที่มีผลทำให้ความต้านทานของหลอดเลือดภายในไตที่ตอบสนองต่อ AII ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือลดลง 10 ± 1 , 12 ± 1 และ 14 ± 1 มิลลิเมตรปรอท นาที่ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (จากค่า basal perfusion pressure, n=9) ดังแสดงในรูปที่ 5 โดย candesartan มีผลทำให้ความต้านทานของหลอดเลือดภายในไตที่ตอบสนองต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์ลดลงร้อยละ 38, 48 และ 43 ตามลำดับเมื่อเทียบกับค่าที่ให้ AII อย่างเดียว



รูปที่ 5 แสดงผลการเปลี่ยนแปลง renal vascular resistance ที่ตอบสนองต่อ AII

และ candesartan (CV)

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับ AII ที่ระดับ $P < 0.05$

อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตของหนูขาวที่แยกออกจากตัว (isolated perfused rat kidney) ครั้งนี้พบว่า basal perfusion pressure มีค่า 94 ± 8 มิลลิเมตรปรอท ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Muller และคณะ (1997) และ Endlich และคณะ (1999) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่า perfusion pressure ต่อการตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตต่อ AII นั้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ AII (dose-dependent) และพบว่าในการทดลองใช้สารออกฤทธิ์ด้านตัวรับของ AII คือ candesartan เพียงอย่างเดียวไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่า basal perfusion pressure เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lambert และคณะ (1998) แต่จากการศึกษาผลของ candesartan ต่อการตอบสนองของหลอดเลือด mesenteric vascular beds ของแมว (Champion and Kodowitz., 1997) และผลต่อการตอบสนองของหลอดเลือดในก้ามเนื้อ (hindquarter vascular beds) ของแมวเช่นกัน (Lambert et al., 1998) พบว่า candesartan มีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ AII ตามความเข้มข้นของ candesartan สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่า candesartan มีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ AII โดยที่ candesartan ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลทำให้การตอบสนองของหลอดเลือดภายในไตต่อ AII ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 นาโนโมลาร์โดยทำให้ค่า renal perfusion pressure ลดลงร้อยละ 39, 47 และ 61 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเบื้องต้น (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) พบว่า candesartan ในความเข้มข้นสูงขึ้นไป 2 เท่าคือ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อ AII ทั้ง 3 ความเข้มข้นดังกล่าวแบบสมบูรณ์ (complete inhibition)

สำหรับการจำแนกตัวรับของ AII (AT) อาศัยการทำงานของ antagonist ที่จับกับ AII receptor อย่างจำเพาะเจาะจง (Zhang et al., 1993) ซึ่งสามารถแบ่งตัวรับออกเป็น 2 ประเภท คือ surmountable antagonist และ insurmountable antagonist (Goddum et al., 1955) โดยที่ antagonist ส่วนใหญ่มักเป็นชนิด surmountable antagonist คือมีผลลดการตอบสนองของ AII (AII dose-response curve) เป็นแบบขนาน โดยไม่มีผลต่อการตอบสนองสูงสุด (maximum response) เช่น losartan (Mochizuki et al., 1995) ส่วน insurmountable antagonist นั้นเป็น antagonist ที่มีผลลดการตอบสนองสูงสุด โดยไม่มีผลต่อความแรง (potency หรือ EC_{50}) ของ antagonist (Liu et al., 1992; Cazaubon et al., 1993; Noda et al., 1993) สำหรับ candesartan นั้นเป็น insurmountable antagonist (Morsing., 1999) ที่ใช้กันแพร่หลายในการรักษาภาวะความดันเลือดสูง เช่น candesartan cilexetil (TCV-116) ทั้งในคน (McInnes et al., 1997; Meineke et al., 1997; Anderson and Neldom, 1998; Malerezyk et al., 1998) และในสัตว์ทดลอง (Wada et al., 1996; Cervenka et al., 1998, 1999)

สำหรับผลของ candesartan ที่ใช้ในผู้ป่วยความดันเลือดสูงก็มีรายงานขัดแย้งกันในเรื่องการศึกษา renal function เช่น การศึกษาของ Buter และคณะ (1997) พบว่า candesartan cilexetil มีผลเพิ่ม RPF และลด filtration fraction (FF) โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลง GFR แต่ Fridmen และคณะ (1998) พบว่า candesartan cilexetil มีผลเพิ่ม RPF และ GFR โดยที่ FF ไม่เปลี่ยนแปลง แม้การทดลองในสัตว์ทดลองก็มีรายงานที่ขัดแย้งเช่นกัน Cervenka และคณะ (1998) ทำการศึกษาในหนูขาวปกติที่ให้ AII พบว่า candesartan cilexetil มีผลลดความดันเลือด, ลดการจับทั้งโซเดียม, RPF, GFR และการขับถ่ายปัสสาวะ แต่จากการศึกษาของ Cervenka และคณะเช่นกัน (1999) ที่ศึกษาในหนู two-kidney, one clip (2K1C) renal hypertensive พบว่า candesartan cilexetil ไม่มีผลลดความดันเลือด แต่มีผลเพิ่ม RPF, GFR และการขับทั้งโซเดียม

สำหรับ CV 11974 ซึ่งเป็น active metabolite ของ candesartan cilexetil (TCV-116) (Shibouta et al., 1993; Kondo et al., 1996) มีรายงานการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้คือ Widdop และคณะ (1994) ศึกษาพบว่า candesartan มีผลก่อให้เกิดภาวะ hyperemic vasodilatation จึงทำให้ความดันเลือดลดลงได้และ candesartan ยังมีผลเพิ่ม RPF และเพิ่ม conductance ของหลอดเลือดด้วย ต่อมามีการศึกษาเพิ่มเติมในหนู 2K1C ที่ชักนำให้เกิดภาวะความดันเลือดสูงมาวัด blood flow โดยวิธี Laser Doppler Flowmetry ในหลอดเลือด 3 ชนิดคือ renal, mesenteric และ hindquarter vascular beds พบว่า candesartan มีผลยับยั้งฤทธิ์ของ AII ทำให้เกิดภาวะ vasodilation ในหลอดเลือด renal vascular beds เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของ candesartan ได้มากกว่าหลอดเลือดชนิดอื่นๆ ทำให้ภาวะความดันเลือดสูงลดลงได้ (Li and Widdop, 1995) Sachinidis และคณะ (1996) และ Flesch และคณะ (1997) พบว่า candesartan มีฤทธิ์ยับยั้งผลของ AII ในการชักนำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเจริญเติบโต (cell growth-promotion effect) ต่อมา Nishimura และคณะ (1998) ศึกษาในหนู Wistar Kyoto ที่มีความดันเลือดปกติและในหนู SHR ที่มีความดันเลือดสูงโดยวิธี Laser Doppler Flowmetry พบว่า candesartan มีผลลดความดันเลือดได้ในหนูทั้งสองชนิด สำหรับการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาใน isolated perfused kidney ที่ความดันทานส่วนใหญ่เกิดจากการหดตัวของ afferent และ efferent arterioles พบว่า candesartan มีผลยับยั้งฤทธิ์ของ AII โดยมีผลลดการตอบสนองสูงสุดแต่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงค่า EC_{50} สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่า candesartan มีผลยับยั้งฤทธิ์ของ AII ในการชักนำให้หลอดเลือด aorta ของกระต่ายลดการหดตัวตอบสนองสูงสุด (maximum contractile response) เป็นแบบ non-competitive antagonist (Noda et al., 1993; Shibouta et al., 1993) จึงจัดเป็น insurmountable antagonist (Vanderheyden et al., 1999) ที่อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากสาเหตุดังนี้ (1) เกิดการฟอร์มเป็น covalent bond กับ receptor จึงเป็น irreversible antagonist (2) มีลักษณะเป็น allosteric binding site กับ AII-receptor (Timmermans et al., 1993) และ (3) จับกับ receptor ได้ช้าเป็น slowly dissociation จึงเป็น pseudo-irreversible antagonist ซึ่งเหตุผลข้อนี้เชื่อว่าเป็นไปได้มากที่สุด (Ojima et

al., 1997) และยังพบว่าผลการยับยั้งฤทธิ์ของ AII โดย candesartan จะลดลงเมื่อเพิ่ม losartan ซึ่งเป็น surmountable antagonist ความเข้มข้นสูงๆ ลงไปด้วยมีผลให้ candesartan ที่จับกับ receptor แล้วยังจะถูกแทนที่ด้วย losartan เมื่อใส่ AII เพิ่มลงไปอีกจึงยังสามารถจับกับ receptor ได้อีก ซึ่งมีความแตกต่างกับการใช้ candesartan เพียงอย่างเดียวที่จะจับกับ receptor แบบ irreversible (Ojima et al., 1997)

ปัจจุบันเป็นที่ทราบแล้วว่า AII ในไตมีส่วนเกี่ยวข้องกับ nitric oxide (NO) ที่สร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelium cell) (Ito et al., 1991; Sigmon et al., 1992) และมีผลร่วมกันในการควบคุมความดันเลือดและการไหลเวียนเลือดในไต (Baylis et al., 1990) จากการศึกษาของ Thorup และคณะ (1998) ใน isolated perfused renal resistance arteries พบว่า losartan และ candesartan ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับของ AII ไม่มีผลต่อการหลั่ง NO ในภาวะปกติแต่มีผลลดฤทธิ์ของ AII ในการชักนำให้เกิดการหลั่ง NO ได้ แสดงให้เห็นว่า AII ที่มีผลทำให้หลอดเลือดที่มีเซลล์บุผนังหลอดเลือดเกิดการหดตัวได้นั้นเป็นผลมาจากการทำงานผ่าน AT_1 -receptor ซึ่งน่าจะมีส่วนทำให้เกิดการหลั่งของ NO ลดลงหรือ NO ออกฤทธิ์ได้ไม่เต็มที่ นอกจากนี้ Dendorfer และคณะ (1998) ยังได้ศึกษาพบว่าการใช้ candesartan ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับชนิด AT_1 -receptor นั้นมีผลลดฤทธิ์ของ AII ในการชักนำให้เกิดการหลั่งสาร catecholamine (adrenaline และ noradrenaline) ทั้งจาก presynaptic sympathetic nerves และ adrenal medulla ของหนู pithed rats ซึ่งจะต้องมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับระหว่าง AT_1 -receptor antagonist กับการหลั่งของ NO และสาร catecholamine กันต่อไป

สรุป

การออกฤทธิ์ของ angiotensin II (AII) ที่มีผลเพิ่มความต้านทานรวมของหลอดเลือดภายในไต (renal vascular resistance) มีกลไกผ่านทาง AT_1 -receptor โดยที่ candesartan (CV 11974) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านตัวรับของ AII ประเภท 1 (AT_1 -receptor antagonist) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดและการเปลี่ยนแปลง perfusion pressure ที่เกิดจาก AII ได้

บรรณานุกรม

- Anderson, O. K. and Neldom, S. (1998) The antihypertensive effect and tolerability of candesartan cilexetil, a new generation angiotensin II antagonist, in comparison with losartan. *Blood. Press.* 7: 53-59.
- Baylis, C., Harton, P. and Engels, K. (1990) Endothelium derived relaxing factor control renal hemodynamics in normal rat kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1: 875-881.
- Buter, H., Navis, G., de Zeeuw, D. and de Jong, P. E. (1997) Renal hemodynamic effects of candesartan in normal and impaired renal function in humans. *Kidney Int. (Suppl. 63):* S185-S187.
- Cazaubon, C., Gougat, J., Bousquet, F., Guiraudou, P., Gayraud, R., Lacour, C., Roccon, A., Galindo, G., Barthelemy, G., Gantret, B., Bernhart, C., Perreaut, P., Breliere, J. C., LeFur, G. and Nisato, D. (1993) Pharmacological characterization of SR 47436, a new non-peptide AT₁ subtype angiotensin II receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265: 826-834.
- Cervenka, L., Wang, C. T. and Naver, L. G. (1997) Effects of acute AT₁ receptor blockade by candesartan on arterial pressure, cortical renal blood flow response to angiotensin II and on renal function. *FASEB. J.* 11: 1548-1548.
- Cervenka, L., Wang, C. T. and Naver, L. G. (1998) Effects of acute AT₁ receptor blockade by candesartan on arterial pressure and renal function in rats. *Am. J. Physiol.* 274 (Renal Physiol. 43): F940-F954.
- Cervenka, L., Wang, C. T., Mitchell, K. D. and Naver, L. G. (1999) Proximal tubular angiotensin II levels and renal functional responses to AT₁ receptor blockade in nonclipped kidneys of Goldblatt-hypertensive rats. *Hypertension.* 33: 102-107.
- Champion, H. C. and Kadowitz, P. J. (1997) Analysis of the effects of candesartan in the mesenteric vascular beds of the cat. *Hypertension.* 30: 1260-1266.

- Champion, H. C., Czapla, M. A. and Kadowitz, P. J. (1998) Responses to angiotensin peptide are mediated by AT₁ receptor in the rat. *Am. J. Physiol.* 274. (Endocrinol. Metab. 37) : E115-E123.
- Chiu, A. T., Herblin, W. F., McCall, D. E., Ardecky, R. J., Carini, D. J., Duncia, J. V., Pease, L. J., Wong, P. C., Wexler, R. R., Johnson, A. L. and Timmermans, P. B. M. W. M. (1989) Identification of angiotensin II receptor subtypes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165: 196-203.
- Dendorfer A., Raasch, W., Tempel, K. and Dominiak, P. (1998) Interaction between the renin - angiotensin system (RAS) and the sympathetic system. *Basic Res. Cardiol.* 93 (Suppl. 2): 24-29.
- Diem, K. and Leutner, C. (1970) Document Geigy Scientific Tables. 7th. ed., Basle. J. R., Geigy.
- Endlich, K., Muller, C., Barthelmebs, M. and Helwig, J. J. (1997) Role of shear stress in nitric oxide - dependent modulation of renal angiotensin II vasoconstriction . *Br. J. Pharmacol.* 127: 1929-1935.
- Flesch, M., Ko, Y., Seul, C., Dusing, R., Feltkamp, H., Vetter, H. and Sachinidis, A. (1997) Effect of TCV-116 and CV 11974 on angiotensin II - induced responses in vascular smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.* 289: 399- 402.
- Fridman, L., Anderson, O. K., Wysocki, M., Friberg, P. and Sunzel, M. (1998) Acute effects of candesartan cilexetil (the new angiotensin II antagonist) on systemic and renal haemodynamics in hypertensive patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 54: 497-501.
- Gaddum, J. H., Hameed, K. A., Hathaway, D. E. and Stephens, F. F. (1955) Quantitative studies on antagonists for 5-hydroxytryptamine. *J. Exp. Physiol.* 40: 49-74.
- Inada, Y., Wada, T., Shibouta, Y., Ojima, M., Sanada, T., Ohtsuki, K., Itoh, K., Kubo, K., Kohara, Y., Naka, T. and Nishikawa, K. (1994) Antihypertensive effects of a highly potent and long-acting angiotensin II subtype -1-receptor antagonists, (±)-1-(cyclohexyloxycarbonyloxy)-ethyl 2-ethoxy-1-[[2-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl] methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylate (TCV-116), in various hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 268: 1540-1547.

- Ito, S., Juncos, L. A., Nushiro, N., Johnson, C. S. and Carretero, O. A. (1991) Endothelium - derived relaxing factor modulates endothelin active in afferent arterioles. *Hypertension*. 17: 1052-1056.
- Johnson, C. I., Millar, J. A., Casley, D. J., McGrath, B. P. and Matthews, P. G. (1984) Hormonal response to angiotensin blockade: comparison between receptor antagonism and converting enzyme inhibition. *Circ. Res.* 46: 128-134.
- Kanagawa, R., Wada, T., Sanada, T., Ojima, M. and Inada, Y. (1997) Regional hemodynamic effects of candesartan cilexetil (TCV-116), an angiotensin II AT(1) - receptor antagonist, in conscious spontaneously hypertensive rats. *Japanese. J. Pharmacol.* 73: 185-190.
- Kondo, T., Yoshida, K., Yoshimura, Y., Motohashi, M. and Tanayama, S. (1996) Characterization of conjugated metabolites of a new angiotensin II receptor antagonist, candesartan cilexetil, in rats by liquid chromatography/ electrospray tandem mass spectrometry following chemical derivatization. *J. Mass. Spectrometry.* 31: 873-878.
- Kubo, K., Kohara, Y., Yoshimura, Y., Inada, Y., Shibouta, Y., Furukawa, Y., Kato, T., Nishikawa, K. and Naka, T. (1993) Non-peptide angiotensin II receptor antagonists: synthesis and biological activity of potential prodrugs of benzimidazole -7- carboxylic acids. *J. Med. Chem.* 36: 2343-2349.
- Lambert, D. G., Champion, H. C. and Kadowitz, P. J. (1998) Inhibition effects of candesartan on responses to angiotensin peptides in the hindquarter vascular beds of the cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 76: 133-140.
- Li, X. C. and Widdop, R. E., (1995) Regional haemodynamic effects of the AT₁ receptor antagonist CV 11974, in conscious renal hypertensive rats. *Hypertension*. 26: 989-997.
- Liu, Y. J., Shankley, N. P., Welsh, N. J. and Black, J. W. (1992) Evidence that the apparent complexity of receptor antagonist by angiotensin II analogues is due to a reversible and synaptic action. *Br. J. Pharmacol.* 106: 233-241.

- Malerczyk, C., Fuchs, B., Belz, G. G., Roll, S., Butzer, R., Breithaupt-Grbgler, K., Herrmann, V., Magin, S. G., Hbgemann, A., Voith, B. and Mutschler, E. (1998) Angiotensin II antagonism and plasma radioreceptor - kinetics of candesartan in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 45: 567-573.
- McInnes, G. T., Okane, K. P., Jonker, J. and Roth, J. (1997) The efficacy and tolerability of candesartan cilexetil in an elderly hypertensive population. *J. Hum. Hypertens.* 11 (Suppl. 2); S75-S80.
- Meineke, I., Feltkamp, H., Hogemann, A. and Gundert Remay, U. (1997) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of candesartan after administration of its pro-drug candesartan cilexetil in patients with mild to moderate essential hypertension: a population analysis. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 53: 221-228.
- Mochizaki, S., Sato, T., Furata, K., Hase, K., Ohkura, Y., Fukai, C., Kosakai, K., Wakabayashi, S. and Tomiyama, A. (1995) Pharmacological properties of KT3-671, a novel nonpeptide angiotensin II receptor antagonist. *J. Cardiovas. Pharmacol.* 25: 22-29.
- Morsing, P. (1999) Candesartan: a new-generation angiotensin II AT₁ receptor block: pharmacology, antihypertensive efficacy, renal function and renoprotection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 10:S248-S254.
- Muller, C., Endlich, K., Barthelmebs, M. and Helwig, J. J. (1997) AT₂- antagonist sensitive potentiation of angiotensin II - induced vasoconstrictions by blockade of nitric oxide synthesis in rat renal vasculature. *Br. J. Pharmacol.* 122: 1495-1501.
- Nishikawa, K., Inada, Y., Shibouta, Y., Wada, T., Ojima, M., Kubo, K. and Naka, T. (1994) Pharmacological profile of a novel nonpeptide angiotensin II subtype 1 receptor antagonist, TCV-116. *Blood Pressure.* 3 (Suppl. 5): 7-14.
- Nishimura, Y., Xu, T., Jhren, O., Heuser, W. and Saavedra, J. M. (1998) The angiotensin AT₁ receptor antagonist CV 11974 regulates cerebral blood flow and brain angiotensin AT₁ receptor expression. *Basic Res. Cardiol.* 93 (Suppl. 2): 63-68.

- Noda, M., Shibouta, Y., Inada, Y., Ojima, M., Wada, T., Sanada, T., Kubo, K., Kohara, Y., Naka, T. and Nishikawa, K. (1993) Inhibition of rabbit aortic angiotensin II (AII) receptor by CV 11974, a new nonpeptide AII antagonist. *Biochem. Pharmacol.* 46:311-318.
- Ojima, M., Inada, Y., Shibouta, Y., Wada, T., Sanada, T., Kubo, K. and Nishikawa, K. (1997) Candesartan (CV 11974) dissociates slowly from the angiotensin AT1 receptor. *Eur. J. Pharmacol.* 319: 137-146.
- Rizzoni, D., Porteri, E., Bettoni, G., Piccoli, A., Castellano, M., Muiesan, M. L., Pasini, G., Guelfi, D. and Rosei, E. A. (1998) Effects of candesartan cilexetil and enalapril on structural alterations and endothelial function in small resistance arteries of spontaneously hypertensive rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 32: 798-806.
- Sachinidis, A., el Haschimi, K., Ko, Y., Seul, C., Dsing, R. and Vetter, H. (1996) CV 11974, the active metabolite of TCV-116 (candesartan), inhibits the synergistic or additive effect of different growth factors on angiotensin II induced proliferation of vascular smooth muscle cells. *Biochem. Pharmacol.* 52: 123-126.
- Shibouta, Y., Inada, Y., Ojima, M., Kubo, K., Kohara, Y., Naka, T. and Nishikawa, K. (1992) Pharmacological profile of TCV-116, a highly potent and long-acting angiotensin II (AII) receptor antagonists. *J. Hypertens.* 10(Suppl. 4): S143.
- Shibouta, Y., Inada, Y., Ojima, M., Wada, T., Noda, M., Sanada, T., Kubo, K., Kohara, Y., Naka, T. and Nishikawa, K. (1993) Pharmacological profile of a highly potent and long-acting angiotensin II receptor antagonists, (2-ethoxy-1-[[2-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl] methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylic acid (CV 11974), and its prodrug, (\pm)-1-(cyclohexyloxycarbonyloxy)-ethyl 2-ethoxy-1-[[2-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4-yl] methyl]-1H-benzimidazole-7-carboxylate (TCV-116). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266: 114-120.
- Sigmon, D. H., Carretero, O. A. and Beierwaltes, W. H. (1992) Angiotensin dependence of endothelium - mediated renal hemodynamics. *Hypertension.* 20: 643-650.

- Thorup, C., Kornfeld, M., Winaver, J. M., Goligorsky, M.S. and Moore, L. C. (1998) Angiotensin II stimulates nitric oxide release in isolated perfused renal resistance arteries. *Pflugers Arch.* 435: 432-434.
- Timmermans, P. B. M. W. M., Wong, P. C., Chiu, A. T., Herblin, W. F., Benfield, P., Carini, D. J., Lee, R. J., Wexler, R. R., Saye, J. A. M. and Smith, R. D. (1993) Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol. Rev.* 45: 205-251.
- Tsuyuki, R. T., Yusuf, S., Rouleau, J. L., Maggioni, A. P., McKelvie, R. S., Wiecek, E. M., Wang, Y., Pogue, J., Teo, K. K., White, M., Avezum, A. Jr., Latini, R., Lindgren, E. and Probstfield, J. (1997) Combination neurohormonal blockade with ACE inhibitors, angiotensin II antagonists and beta-blocker in patients with congestive heart failure: design of the Randomized Evaluation of Strategies for Left Ventricle Dysfunction (RESOLVD) Pilot Study. *Can. J. Cardiol.* 13: 1165-1174.
- Vanderheyden, P. M. L., Fierens, F. L. P., De Backer, J. P., Fraeyman, M. and Vauquelin, G. (1999) Distinction between surmountable and insurmountable selective AT₁ receptor antagonists by use of CHO-K1 cells expressing human angiotensin II AT₁ receptors. *Br. J. Pharmacol.* 126: 1057-1065.
- Wada, T., Sanada, T., Ojima, M., Kanakawa, R., Nishikawa, K. and Inada, Y. (1996) Combined effects of the angiotensin II antagonist candesartan cilexetil (TCV-116) and other classes of antihypertensive drugs in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 19: 247-254.
- Weber, M. A. (1998) Comparison of type 1 angiotensin II receptor blockers and angiotensin converting enzyme inhibitions in the treatment of hypertension. *J. Hypertens.* (Suppl. 15) : S31-S36.
- Widdop, R. E., Li, X. C. and Jarrott, B. (1994) Regional haemodynamic effects of the novel AT₁ receptor antagonist, CV 11974, in conscious rats. *Blood Press.* 3 (Suppl. 5) ; 15-20.
- Woodman, O. L., Rechtman, M. P. and Lang, W. J. (1980) A comparison of the responses to some dopamine - receptor agonists and antagonist in the isolated perfused rat kidney. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 248: 203-211.

Zhang, J. C., Van Meel, A., Pfaffendorf, M. and Van Zwieten, P. (1993) Different types of angiotensin II receptor antagonism induced by BIBS 222 in the rat portal vein and rabbit aorta; the influence of receptor reserve. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 269: 509-514.