

综述

内皮素-1在疼痛中的作用及机制研究进展

胡丛坤¹, 尤浩军^{1,2}, 雷静^{1,2,*}¹延安大学感觉与运动转化医学研究中心, 延安 716000; ²延安市运动康复医学重点实验室, 延安 716000

摘要: 内皮素-1是一种源自内皮细胞的多肽, 由21个氨基酸残基组成。近年来, 研究发现内皮素-1不仅在血管紧张调节中发挥关键作用, 还参与包括炎性痛、神经病理性疼痛、癌痛等多类型病理性痛的发生与发展。内皮素-1通过与其受体结合, 激活多种信号通路, 包括蛋白激酶C、钙离子通道和磷酸肌醇途径等, 进而影响神经元的兴奋性和伤害性信息传递。本文通过综述目前内皮素-1在疼痛发生和发展中的作用和机制及常用的内皮素-1受体抑制剂, 为更好地利用内皮素-1及其受体缓解与治疗病理性痛提供线索。

关键词: 内皮素-1; 疼痛; 内皮素受体

Research progress on the role and mechanism of endothelin-1 in pain

HU Cong-Kun¹, YOU Hao-Jun^{1,2}, LEI Jing^{1,2,*}¹Center for Translation Medicine Research on Sensory-Motor Diseases, Yan'an University, Yan'an 716000, China; ²Key Laboratory of Yan'an Sports Rehabilitation Medicine, Yan'an 716000, China

Abstract: Endothelin-1 is a peptide derived from endothelial cells, consisting of 21 amino acid residues. In recent years, research has found that endothelin-1 not only plays a key role in vascular tone regulation but also participates in the occurrence and development of various types of pathological pain, including inflammatory pain, neuropathic pain, and cancer pain. Endothelin-1 binds to its receptors and activates multiple signaling pathways such as protein kinase C, calcium ion channels, and the phosphoinositide pathway, thereby influencing neuronal excitability and nociceptive information transmission. This article briefly reviews the current understanding of the mechanisms and potential roles of endothelin-1 in the development of pain, as well as commonly used endothelin-1 receptor antagonists, aiming to provide clues for better utilizing endothelin-1 and its receptors to alleviate and treat pathological pain.

Key words: endothelin-1; pain; endothelin receptor

内皮素-1 (endothelin-1, ET-1)是一个由21个氨基酸残基组成的肽, 是一种有效的血管收缩剂^[1], 其具有促进组织生长、促血管活性和致痛等特性, 能够通过影响神经、呼吸、循环及内分泌等多系统^[2], 调控多种生理功能。ET-1属于一个密切相关的肽家族, 其家族成员还包括内皮素-2, 内皮素-3, 内皮素-4和萨拉毒素。它们在结构上都与内皮素-1相似, 但都是具有组织特异性表达的单独基因产物^[3]。ET-1由内皮细胞产生, 因其最早被发现, 故命名为内皮素-1。随着研究的深入, 现发现ET-1不

但可由内皮细胞产生, 也可由其他细胞产生, 如上皮细胞、心肌细胞、白细胞和巨噬细胞等^[4,5]。

ET-1广泛分布于内分泌和神经系统, 循环系统也有少量分布^[6], 其作用效果是局部的, 常以旁分泌(细胞分泌的ET-1作用于邻近细胞)或自分泌(ET-1释放作用于产生它的细胞)形式发挥作用。内皮素作用时间短暂, 能够被内皮素转换酶(endothelin converting enzyme, ECE)迅速降解^[7]。ET-1的合成和释放受病理生理因素的调节。现已证明, 能够抑制ET-1产生的因素包括NO、前列环素和心房利钠激

素^[8]，而诱导 ET-1 产生的因素包括促炎细胞因子、生长因子、血管紧张素 II、去甲肾上腺素、加压素、缓激肽、凝血酶、机械应激、外周组织损伤和缺氧等^[1, 9, 10]。目前，对于 ET-1 的研究主要集中在其对血管的影响，而其对疼痛发生和发展的调控作用并未明确。本文将对 ET-1 诱导疼痛的可能机制及其参与不同类型疼痛进行简要综述，希望能为临床缓解疼痛提供新思路。

1 ET-1 受体的疼痛调控机制

ET-1 通过两种亚型的 G 蛋白耦联受体发挥作用，分别称为内皮素受体 A (endothelin A receptor, ETAR) 和内皮素受体 B (endothelin B receptor, ETBR)。在外周神经系统，ETAR 在外周末梢的伤害感受器、神经轴突和背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中的伤害感受细胞上均有表达。相比之下，ETBR 只存在于 DRG 中的卫星神经胶质细胞和非成髓鞘的雪旺细胞^[11]。在中枢神经系统中，ETAR 主要分布于丘脑背内侧核、腹外侧核、前正中核、中央正中核和网状核的神经元胞体和突起；海马 CA1, CA2, CA3 区神经元胞体和轴突；小脑绒球小结叶和蚓部的浦肯野细胞；下丘脑室旁核神经元胞体及轴突；杏仁核神经元胞体及轴突和树突；脉络丛上皮细胞及脑血管平滑肌细胞。而 ETBR 在脑内的表达区域比 ETAR 广泛，主要表达于脉络丛上皮细胞及毛细血管内皮细胞；小脑半球浦肯野细胞及小脑齿状核神经元；中脑动眼神经

核、黑质和红核；脑桥被盖和脑桥核；薄束核、楔束核、迷走神经背核、三叉神经束核、延髓的外侧和旁正中网状区的神经元细胞体；大脑皮层所有锥体神经元的胞体、树突和轴突；丘脑室旁核、腹外侧核、前内侧、中内侧和背内侧核的神经元细胞体；下丘脑后部、视前核和视上核的神经元胞体、树突和轴突^[12]。

分布于中枢与外周的内皮素受体在功能上有一定的差异，外周内皮素受体主要负责调控疼痛感受，而中枢的内皮素受体不仅参与疼痛感受，并且参与包括血管收缩调控，神经营养功能以及调节脑垂体和下丘脑神经肽的释放等功能^[13] (表 1)。

ET-1 参与疼痛调控的机制复杂，既参与痛敏，也参与镇痛，取决于其作用部位，浓度和参与的受体。研究显示，在多种病理状态下组织或血浆内 ET-1 的浓度升高，例如，急性皮肤损伤或缺血性损伤后、炎症、肿瘤等^[21-25]。ETAR 和 ETBR 均参与小鼠腹腔注射 ET-1 诱发的伤害性行为^[26]。大鼠脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)引起脊神经 ETAR 和 ETBR 表达上调，SNL 大鼠神经结扎侧足底皮下注射 ET-1 产生由热刺激和冷刺激诱发的痛敏现象，ETAR 既参与热痛敏，也参与冷痛敏，而 ETBR 仅参与冷刺激诱发的痛敏^[27]。在奥沙利铂腹腔注射诱发的神经病理性痛小鼠中，脊髓 ETAR 表达增多，背根节 ETAR 和 ETBR 表达均增多^[28]，脊髓 ETAR 参

表 1. 内皮素-1 受体在中枢神经系统的分布及功能

Table 1. Distribution and function of endothelin-1 receptors in the central nervous system

Receptor type	Location	Function	Reference
ETAR	Smooth muscle cells of spinal cord and cerebral blood vessels	Mediates vasoconstrictor or vasodilator response	[14, 15]
	Noradrenergic neurons, adrenergic neurons, dopaminergic neurons, and non-catecholaminergic neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus	Regulates potential neuroprotective effects on neurotransmitter systems	[16]
		Regulates release of pituitary and hypothalamic neuropeptides	[17]
ETBR	Purkinje cells of the cerebellum; choroidal epithelial cells, glial cells, ependymal cells lining the ventricles; brainstem astrocytes	Promotes differentiation, proliferation, and migration of nerve cells	[18]
		Regulates inflammatory activation of astrocytes	[19]
		Participates in regeneration and anti-regeneration of astrocytes after brain injury	[20]

ETAR: endothelin A receptor; ETBR: endothelin B receptor.

与奥沙利铂诱发的神经病理性痛机械性痛敏^[29]。脊髓内 ETAR 参与痛易化作用，鞘内给予 ETAR 拮抗剂可抑制切口疼痛、SNL 或坐骨神经结扎引起的神经病理性疼痛和脊髓损伤诱发的机械性异常性疼痛。鞘内给予 ETBR 拮抗剂对 SNL 诱发的机械性异常性疼痛具有镇痛作用，但阻断了脊髓 ET-1 对切口痛的镇痛作用，对脊髓损伤诱发的机械异常性疼痛没有影响^[29]。ET-1 在脑内对疼痛的调控既有痛敏，也有镇痛作用。大鼠脑室内给予低剂量 ET-1 能够诱发机械和热痛敏现象，ETAR 参与痛敏的产生，ETBR 参与镇痛作用。大鼠脑室内给予高剂量 ET-1 能够产生 ETAR 介导的镇痛作用^[30]。大鼠腹腔注射脂多糖诱导机械痛敏和热痛敏，脑室内给予 ETAR 抑制剂 BQ123 和 ETBR 抑制剂 BQ788 都能够抑制机械性痛敏，而下丘脑仅 ETAR 参与脂多糖诱导的机械性痛敏，ETBR 不参与这种反应^[31]。ET-1 的疼痛调控作用机制包括以下几个方面(图 1)。

1.1 升高细胞内 Ca^{2+} 浓度

ET-1 产生疼痛所涉及的受体多样而复杂。刺激

ETAR 会引起细胞内钙的升高，ETAR 激活后会激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC)，导致肌醇三磷酸 (inositol triphosphate, IP3) 和甘油二酯 (diacylglycerol, DAG) 的产生，细胞内储存的 Ca^{2+} 会大量释放^[32]，研究发现，在 DRG 细胞中，注射 ET-1 引起细胞内 Ca^{2+} 浓度升高，ETAR 抑制剂 BQ-123 能够有效抑制 Ca^{2+} 浓度升高，进一步研究发现，使用 PLC 抑制剂预处理能够降低 Ca^{2+} 浓度升高，表明 ETAR 与 PLC 在 Ca^{2+} 浓度升高的过程中起到不可忽视的作用^[2]。

ETAR 也能够通过激活鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC)，将三磷酸鸟苷 (guanosine triphosphate, GTP) 转化为环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP)，cGMP 可以激活蛋白激酶 G，产生抗伤害性反应^[33]。暴露于 ET-1 的角质形成细胞会迅速出现细胞内钙浓度升高，胞内 Ca^{2+} 的浓度变化导致许多物质 (包括 ET-1 本身) 的释放急剧增加，但是在暴露于 ET-1 24 h 后，角质形成细胞的基础释放会受到抑制，这可能是细胞释放物质产生的负反馈作用^[34]。

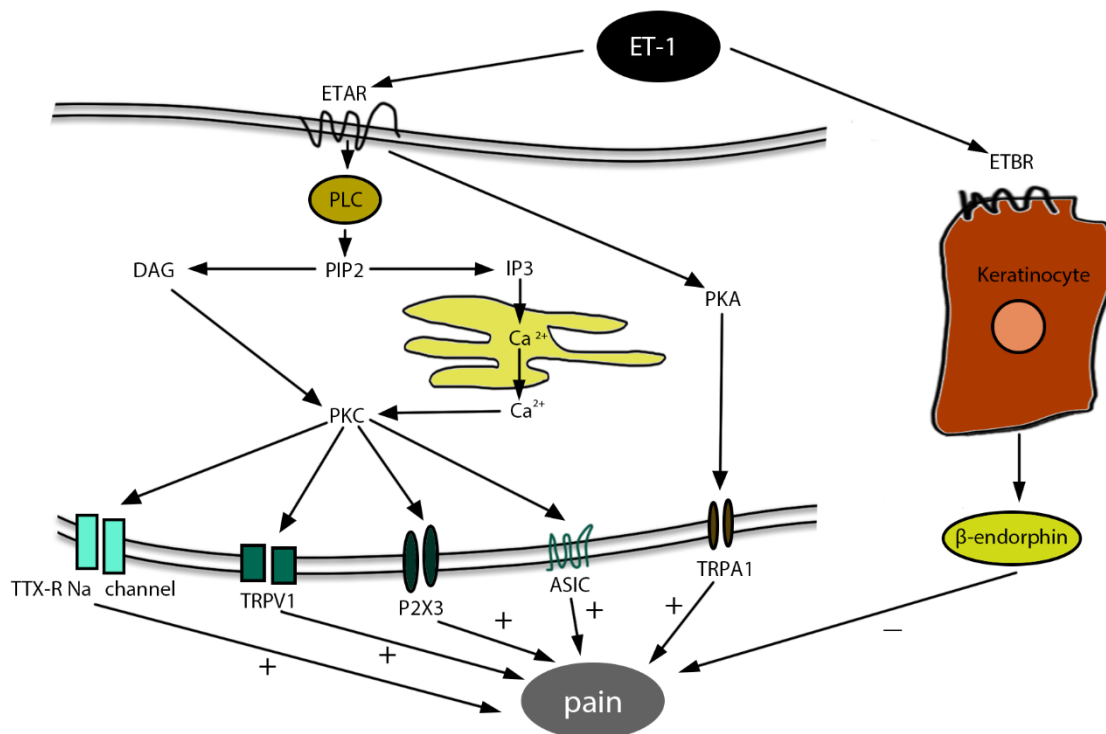


图 1. ET-1 的疼痛调控作用机制

Fig. 1. Mechanisms in ET-1 in pain regulation. ET-1: endothelin-1; ETBR: endothelin Receptor B; ETAR: endothelin receptor A; PLC: phospholipase C; IP3: inositol trisphosphate; DAG: diacylglycerol; PKC: protein kinase C; TRPV1: transient receptor potential Vanilloid 1; ASIC: acid-sensing ion channel; TTX-R Na channel: tetrodotoxin-resistant sodium channel; P2X3: purinergic ligand-gated ion channel 3; PKA: protein kinase A; TRPA1: transient receptor potential Ankyrin 1; +: hyperalgesia; -: analgesia.

1.2 激活PKC

ETAR被认为是G蛋白耦联受体,因此ETAR激活的主要作用是PLC的激活,这会导致IP₃和DAG的产生。随后,DAG会激活PKC。在DRG中,10种PKC同工酶都已被检测到,PKC能够特异性地参与伤害感受器的致敏。因此,PKC抑制剂能够有效缓解由ET-1造成的疼痛过敏^[35]。

PKC在外周信号传导中主要有两个信号靶点,一个是瞬时受体电位香草酸亚型1(transient receptor potential Vanilloid 1,TRPV1),PKC能够直接磷酸化TRPV1细胞质域中的两个丝氨酸残基,导致TRPV1作用效果增强或敏感性增加^[36]。研究表明,ET-1能够通过ETAR调节TRPV1的功能活性,PKC抑制剂BIM X能够完全抑制该作用,ET-1的增强作用在PKA抑制剂H-89存在的情况下也持续存在。这表明ET-1通过PKC介导的效应增强TRPV1的活性,这是ET-1产生疼痛和痛觉过敏的渠道之一^[37]。

PKC另一个信号靶点是河豚毒素耐药性(tetrodotoxin-resistant,TTX-R)钠通道,TTX-R钠通道在伤害感受器致敏以及炎症引起的痛觉过敏中起重要作用,肾上腺素诱导的TTX-R钠电流增强可被PKC选择性抑制剂抑制^[38]。研究表明ET-1通过激活DRG神经元中的ETAR,使TTX-R钠通道产生电压依赖性的超极化移位,这是ET-1诱导伤害感受器兴奋的机制之一^[39]。

1.3 激活酸敏感离子通道(acid-sensing ion channels,ASICs)

ASICs是与疼痛相关的离子通道,如pH传感器。ASICs在DRG细胞体和感觉终端均有表达,它们参与质子诱发的疼痛信号传导。与TRPV1不同,ASICs主要介导外周pH诱导的疼痛感觉,pH值主要范围为6.0~7.0。ASICs被发现是组织酸中毒相关疼痛的主要参与因子,如炎症、组织损伤、缺血和肿瘤^[40]。

研究发现,ET-1通过ASICs增加了大鼠初级感觉神经元的低pH值电流,因为ASICs通道阻滞剂能够完全阻断该电流。ET-1增强DRG电流体现在两个方面,1)增加ASICs介导的电流,2)增加细胞外酸刺激诱发的动作电位数量。同时,研究者发现使用PKC抑制剂和ETAR抑制剂均能够阻断电流,这表明G蛋白和PKC依赖性通路参与了ET-1对ASIC的增敏,而ET-1对ASICs的增敏作用通过ETAR介导,以上结论说明ASICs作为ET-1的靶点之一,能

为治疗与ET-1相关的疼痛提供更多策略^[41]。

1.4 激活瞬时受体电位阳离子通道A1(transient receptor potential Ankyrin 1,TRPA1)

TRPA1是一种主要分布于感觉神经元的非选择性阳离子通道,在感觉神经元中起着分子探测器的作用,感知各种伤害性刺激。TRPA1可被多种引起疼痛和刺激的内源性和外源性物质激活,TRPA1的激活使伤害感受器去极化,并有助于对有害刺激的感知。此外,TRPA1通道活性可被炎症介质致敏,包括缓激肽、胰蛋白酶和神经生长因子(nerve growth factor,NGF)^[42]。

研究发现,ET-1通过ETAR和PKA介导的信号通路使TRPA1增敏。并且,ET-1不会在DRG神经元中产生强大的Ca²⁺信号,但会使已激活的TRPA1通道活性增敏。阻断TRPA1、ETAR和PKA均可显著减轻ET-1诱导的机械性痛觉过敏,表明TRPA1是ET-1的一个新的分子靶点,即TRPA1通过ETAR-PKA通路诱导产生机械性痛觉过敏。通过抑制TRPA1和ETAR-PKA通路可能会为缓解由ET-1造成的相关疼痛提供新的治疗策略^[43]。

1.5 激活嘌呤能配体门控离子通道3(purinergic ligand-gated ion channel 3,P2X3)受体

P2X3属于P2X嘌呤受体家族,是由ATP激活的配体门控离子通道家族。在P2X家族成员中,P2X3受体已被认为是伤害性感觉传入的重要中介,它主要表达于DRG的伤害感觉神经元。炎症期间,P2X3受体被激活并且表达增加,P2X3受体的激活导致周围神经的敏感化。P2X3受体拮抗剂已被证明在不同的疼痛和炎症性疼痛模型中起抗伤害性作用^[44]。

ET-1诱导大鼠产生痛觉过敏,且效果会随着给药部位的重复机械刺激次数增加而增强。ET-1诱导痛觉过敏是通过激活血管内皮细胞上的ETAR和ETBR,反复的机械刺激会导致两种受体敏感性增加,更容易受到刺激,导致ATP的释放。ATP被释放后作用于伤害性感受器上的P2X3受体。Jin等^[45]研究发现,ET-1浓度依赖性地增强大鼠DRG神经元P2X3受体介导的电流,并且阻断ETAR会减弱P2X3介导的电流,PKC抑制剂也能产生类似效果,但ET-1介导P2X3受体增强的分子机制仍需要进一步明确。综上,ET-1能够通过ETAR激活细胞内PKC信号级联,增强P2X3受体介导的DRG神经元电流,并导致机械性异常疼痛的产生。

1.6 表观遗传学调控

研究显示, 鞘内给予ET-1能够通过ETAR显著降低坐骨神经部分结扎模型小鼠机械性异常疼痛和热痛敏。ET-1/ETAR产生的镇痛作用主要通过ET-1与脊髓 γ -氨基丁酸能神经元中的ETAR结合以激活PKC δ , 促进这些神经元中组蛋白去乙酰酶5 (histone deacetylase 5, HDAC5)的核质穿梭, 导致神经元细胞核中 *Gad1* 和 *Gad2* 基因启动子区组蛋白3在赖氨酸9的乙酰化(乙酰基-H3K9)增加, 触发 *Gad1* 和 *Gad2* 的转录, 增加了脊髓谷氨酸脱羧酶 (glutamate acid decarboxylase, GAD)65/67 的表达, GAD可以将谷氨酸转化为 γ -氨基丁酸, 从而抑制了伤害性信号传递^[13]。

1.7 与 μ -阿片受体(μ -opioid receptor, MOR)相互作用

研究显示, 疼痛时ET-1和ETAR表达水平升高, ETAR和MOR在脊髓、DRG和外周神经中共同表达, 细胞成像研究结果显示ET-1水平升高会增加ETAR/MOR异二聚体, 从而降低了吗啡的镇痛效果, 有助于吗啡镇痛耐受性的产生。ETAR抑制剂能够增强吗啡的镇痛作用, 阿片类药物与ETAR拮抗剂(Compound E)联合给药可以减少镇痛所需的阿片类药物的用量, 也可以为阿片类成瘾患者提供适

当的疼痛管理^[46]。

2 ET-1在病理性疼痛中的作用

研究显示, 在许多病理状态中, 如炎性疼痛、损伤性疼痛、周围神经病理性疼痛和癌痛等, 都伴随ET-1的浓度升高。浓度上升的ET-1通过两种不同的内皮素受体参与病理性疼痛的产生和维持(表2)。

2.1 炎性疼痛

炎性疼痛是在炎症条件下, 炎性物质刺激初级传入神经纤维, 导致兴奋或致敏, 从而引起疼痛或痛觉过敏^[51]。在炎症状态下, 内源性ET-1的体内分泌明显增加, 增加的ET-1通过ETAR诱发大鼠出现热痛敏和机械痛敏。研究发现, 在诱导炎症之前, 预先使用ETAR抑制剂BQ-123能够有效阻断大鼠ET-1注射后90 min内的热痛觉过敏, 这表明ETAR在大鼠的炎症性疼痛和痛觉过敏的产生过程中起重要作用^[31]。

不同于ETAR, ETBR在炎性疼痛中扮演着双重作用, 其不仅能产生痛敏, 也能产生镇痛作用, 在大鼠完全弗氏佐剂诱导的炎症性疼痛中, 研究者发现ETBR激动剂和ETBR拮抗剂均可降低炎症诱发的热痛敏和机械性痛敏。在急性炎症的条件下,

表2. 内皮素-1受体在病理性疼痛中的作用

Table 2. Roles of endothelin-1 receptor in pathological pain

Pain type	Manifestation	Involved receptors	Receptor action	Reference
Inflammatory pain	Under inflammatory conditions, inflammatory mediators stimulate primary afferent nerve fibers, leading to excitation or sensitization, causing pain or hyperalgesia	ETAR	Induces thermal and mechanical hyperalgesia	[31]
		ETBR	Induces pain and also exerts analgesic effects	[47]
Incisional pain	The complex response generated by an incision may involve reactions to local injury and inflammation	ETAR	Induces primary and referred pain	[48]
Peripheral neuropathic pain	Caused by damage or disease affecting the peripheral nervous system, including neuropathic pain associated with peripheral neuropathy	ETAR	Inhibiting ETAR can alleviate pain caused by peripheral nerve damage	[27, 29, 49]
Cancer pain	Caused by tumor compression or infiltration of tissues, and by skin, nerve, and other changes resulting from hormonal imbalances or immune reactions, or pain caused by treatments and diagnostic procedures	ETAR	In tibial cancer, inhibiting ETAR can effectively alleviate rat tibial cancer pain by suppressing activation of the PI3K-Akt signaling pathway	[50]

ETAR: endothelin A receptor; ETBR: endothelin B receptor.

ETBR能够同时介导促伤害和抗伤害双重作用，ETBR介导的抗伤害作用与角质形成细胞释放内源性阿片肽—— β -内啡肽有关。不同部位的ETBR被激活，从而通过不同的受体耦联途径产生不同的反应^[47]。

综上，内源性ET-1在急性炎症期间的热痛觉和机械痛觉过敏中起着重要作用。ETAR激活主要产生促伤害行为，ETBR激活能够有效抑制热痛和机械疼痛过敏，然而ETBR在病理性机械过敏方面有促痛和镇痛的双重作用。

2.2 损伤性疼痛

组织结构的损伤通常会导致炎症，但不同类型的损伤会导致不同的细胞和分子参与反应，但它们也会有共同点，比如所有的损伤都会产生过高浓度的内源性ET-1^[52]。切口产生复杂反应，可能会涉及对局部损伤和炎症的反应，包括触发伤口愈合，募集免疫细胞，释放细胞因子和其他细胞激活剂的反应等^[53]。这些复杂的因素使得切口后的整体反应与单独的炎症不同。Mujenda等^[48]利用切口痛大鼠模型研究发现，毛发皮肤切口释放的ET-1会激活伤害感受器，引起原发性异常性疼痛及痛觉过敏，同时大鼠会产生背部远处皮肤的异位性疼痛，ETAR抑制剂对原发性疼痛及痛觉过敏作用较弱，但对继发性疼痛能够产生有效的抑制作用。因此，术后应用ETAR抑制剂能够有效减轻术后疼痛，提高病人术后生存质量。

2.3 周围神经病理性疼痛

周围神经病理性疼痛由影响周围神经系统的损伤或疾病引起，包括与周围神经病变相关的神经病理性痛^[54]，表现为自发性疼痛以及对机械和热刺激的诱发疼痛反应增加。周围神经病理性疼痛不仅与无髓鞘C纤维和A δ 纤维的外周末端受到代谢损伤、毒素、药物、细胞因子和其他炎症介质的影响有关，也与轴突受到创伤、压迫、缺氧、炎症、过度刺激和化学损伤等有关^[55]。

糖尿病患者小神经纤维的早期退化会导致从痛觉过敏到疼痛和温度感觉丧失的症状，糖尿病性神经病变与神经血管血流量减少和伴随的神经内缺氧有关，导致神经传导受损。触觉异常性疼痛是对正常无痛刺激的反应，是糖尿病神经病变的常见并发症^[56]。Jarvis等^[49]通过糖尿病大鼠神经性疼痛模型研究发现，选择性阻断ETAR能够减轻糖尿病大鼠触觉异常性疼痛，相比之下，腹膜内注射ETBR选择

性拮抗剂没有显著改变触觉异常性疼痛，这表明ET-1通过ETAR介导糖尿病神经病变。

为了研究ET-1在神经性疼痛的作用及机制，研究者利用SNL模型研究大鼠后爪机械痛和热痛的变化，ET-1注射到模型大鼠体内产生冷和机械疼痛，同时伴有热痛觉过敏，使用ETAR抑制剂能够有效缓解热痛觉过敏。他们发现在大鼠脊髓中ETAR和ETBR表达均增加，在ET-1注射后，DRG中Ca²⁺反应增加，这可能是SNL损伤后ET-1诱导疼痛加剧的原因，这些研究结果证明了内皮素受体拮抗剂缓解周围创伤性神经病患者疼痛的可能性^[27]。

在另一项研究中，研究者将奥沙利铂注射到大鼠体内，使大鼠产生持久的机械性异常疼痛和短暂的冷异常性疼痛，发现在脊髓中预先使用ETAR拮抗剂能够有效抑制由奥沙利铂产生的机械性异常性疼痛，与此相对的是，在实验前对外周ETAR进行抑制处理，能够有效缓解由此产生的冷异常性疼痛，对于机械性异常性疼痛的作用很微小。由此说明，ET-1/ETAR介导的脊髓背角中枢致敏可能有助于奥沙利铂诱导的机械异常性疼痛的发展，而奥沙利铂诱导的冷异常痛的发生和发展则是由外周ETAR介导。该结果说明，通过外周和脊柱作用，ETAR拮抗剂有效地预防了冷异常性痛和持久的机械异常痛，表明ETAR在奥沙利铂诱导的神经性疼痛中的作用，可能会为处理相关疼痛提供新的治疗策略^[29]。

2.4 癌痛

癌症晚期患者常遭受疼痛折磨，这可能是由肿瘤的压迫或浸润组织引起的，并由激素失衡或免疫反应引起的皮肤、神经和其他变化，或治疗和诊断程序引起的疼痛。癌痛根据发作和持续时间可分为急性和慢性疼痛。急性疼痛起病突然，病因明确，且会随着治疗而减轻。而慢性疼痛的起病较为隐匿，病程持续较长且波动，且对部分治疗效果反应较差^[57]。

ET-1参与许多类型肿瘤的生长和进展，ET-1的受体激活有助于肿瘤细胞增殖、逃避细胞凋亡、新生血管形成、肿瘤的侵袭和转移扩散，同时内皮素还调节肿瘤浸润免疫细胞的运输、分化和激活^[58, 59]。超过70%的晚期乳腺癌或前列腺癌患者表现为转移性疾病，骨是前列腺癌和乳腺癌转移的常见部位^[60]。ET-1通过ETAR刺激成骨细胞中的有丝分裂形成，导致新骨形成。肿瘤产生的ET-1增强成骨细

胞增殖, 减少破骨细胞骨吸收和运动, 导致成骨细胞转移事件, 而宿主骨中的成骨细胞和内皮细胞分泌某些因子(IL-1、TNF- α 和转化生长因子- β 等), 这反过来又刺激癌细胞产生更多的ET-1^[61]。因此, ET-1及其受体在正反馈回路中起着关键作用, 可以加速骨骼中肿瘤的生长。

在骨癌中, ET-1通常与剧烈疼痛有关, Tang等^[50]利用大鼠胫骨癌模型研究发现, 使用电针、BQ-123或BQ-123联合电针均能够有效减轻小鼠的疼痛, 利用实时荧光定量PCR和蛋白质印迹检测 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α SMA)、ETAR、P-磷脂酰肌醇3激酶(P-phosphatidylinositol 3-kinase, P-PI3K)和P-蛋白激酶B(P-protein kinase B, P-Akt)的表达, 发现BQ-123组和电针组的 α SMA、ETAR、P-PI3K和P-Akt表达降低, 而在BQ-123联合电针组, 其表达水平更低, 这些结果表明BQ-123、电针或BQ-123联合电针可能通过抑制PI3K-Akt信号通路的激活来降低 α SMA和ETAR的表达, 有效减轻大鼠胫骨癌痛。

对于不同的癌症, 内皮素受体的参与程度不一样, Pickering等^[62]将鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)或黑色素瘤接种到雌性小鼠的后爪足底中, 并比较疼痛指数、肿瘤体积和ET-1含量。结果表明黑色素瘤组触觉异常性疼痛与肿瘤体积的相关性更强, 且ET-1的浓度远低于SCC组, 触觉异常性疼痛程度较SCC组更轻。BQ-123分别注射到两组小鼠肿瘤部位, 仅对SCC的触觉异常性疼痛有效, 表明癌症疼痛的强度可能与肿瘤的ET-1含量更相关, 而不是肿瘤大小, 而且ETAR介导SCC的疼

痛, 但不介导皮肤黑色素瘤的疼痛, 但其他部位的其他肿瘤仍需要进一步的研究。

ET-1只参与部分种类和位置的癌症疼痛, Wacnik等^[63]在研究中发现, 根骨接种黑色素瘤细胞的小鼠既没有持续疼痛, 也没有痛觉过敏或骨破坏, 收集的灌注剂中的ET-1水平也没有增加。由此说明, ET-1对于癌症疼痛的参与取决于癌症的类型和肿瘤的解剖位置。在另一项研究中, 研究者发现有消化道疼痛症状的腹膜癌患者血浆中ET-1含量较高, 同时高浓度的ET-1会诱导小鼠产生内脏痛反应和结肠收缩增加, 使用ET-1受体抑制剂能够有效缓解ET-1的作用效果。研究者发现ET-1产生了钙离子动员效果, 诱导小鼠内脏超敏反应和结肠蠕动产生^[64]。

3 ET-1受体抑制剂在疼痛中的应用

目前常用的ET-1受体抑制剂主要有以下3种, 分别是ETAR抑制剂、ETBR抑制剂及ETAR/ETBR混合抑制剂, 研究显示, ETAR抑制剂和混合抑制剂都能通过对内皮素受体的抑制产生减轻疼痛的作用(表3)。

3.1 ETAR抑制剂

常用的ETAR抑制剂有BQ-123及阿曲生坦, 研究表明BQ-123对脑、心、肺等重要器官具有保护作用^[69]。同样, 许多证据都表明BQ-123能够减轻不同原因引起的疼痛。在胫骨癌引发的疼痛中, Tang等^[50]发现BQ-123联合电针可缓解胫骨癌痛, 主要是通过抑制PI3K/Akt信号通路的激活, 降低 α SMA和ETAR的表达水平, 而在另一项研究中,

表3. 内皮素-1受体抑制剂在疼痛中的应用

Table 3. Applications of endothelin-1 receptor antagonists in pain

Receptor	Inhibitor	Specific action	Reference
ETAR	BQ-123	Reducing the expression levels of α -SMA and ETAR by inhibiting the activation of the PI3K/Akt signaling pathway	^[50]
		Alleviating thermal hyperalgesia induced by spinal cord injury by inhibition of ETAR	^[65]
	Atrasentan	Alleviating pain caused by diabetes in patients, while allowing the use of common analgesics to reduce kidney damage in patients	^[66, 67]
	Compound E	Restoring the diminished morphine-induced analgesic effect of ET-1 by inhibiting the activity of the ETAR/MOR heterodimer	^[46]
ETAR/ ETBR	Bosentan	Inhibiting the production of TNF- α and IL-1 β induced by superoxide anions, increasing the production of IL-10, reducing oxidative stress, alleviating footpad edema and leukocyte recruitment, and reducing mechanical and thermal hyperalgesia	^[68]

ETAR: endothelin A receptor; ETBR: endothelin B receptor; MOR: μ -opioid receptor; ET-1: endothelin-1.

研究者发现对脊髓损伤的大鼠使用 BQ-123 能够短暂减轻脊髓损伤诱导的热痛觉过敏^[65], 这说明 BQ-123 能够通过抑制 ETAR 产生缓解疼痛的作用。

阿曲生坦是一种选择性 ETAR 抑制剂, 临床主要用于糖尿病肾病的治疗。同时有证据显示该药物能够缓解由糖尿病带来的疼痛, 研究者在临床研究中发现在糖尿病和慢性肾病患者中, ETAR 拮抗剂阿曲生坦与安慰剂相比, 能够减少糖尿病患者的疼痛发作次数, 并且使用阿曲生坦后, 患者能够使用普通的镇痛药止痛, 而不是肾毒性药物, 能够显著改善患者的疾病预后^[67]。

3.2 ETAR/ETBR 混合抑制剂

波生坦是一种混合内皮素受体拮抗剂, 能够有效抑制 ETAR/ETBR 的作用, 因此, 波生坦已成为研究 ET-1 在疾病中的作用和靶向 ET-1 治疗疾病的重要工具。在炎性痛的研究中, 研究者利用足底注射超氧阴离子供体, 诱导 ET-1 的 mRNA 表达, 并成功引发炎症和疼痛, 而后利用波生坦能够有效缓解由此带来的疼痛, 波生坦抑制超氧阴离子诱导的 TNF- α 和 IL-1 β 的产生, 增加 IL-10 的产生, 减少氧化应激的同时, 也减轻了足跖水肿和白细胞募集^[68]。

4 小结与展望

综上, ET-1 作为一个对疼痛有重要贡献的多肽, 越来越受到基础以及临床工作的重视。无论是炎性痛与损伤性疼痛, 还是愈发被重视的癌症性疼痛, 内源性 ET-1 都参与其中并产生关键调控作用。同时许多离子通道与递质途径都受到 ET-1 的调控, 这表明 ET-1 在体内发挥广泛的作用。阐明内源性 ET-1 及其受体在疼痛中作用和机制有助于疼痛药物的开发及应用, 为临床有效地预防或缓解疼痛提供更多思路。

参考文献

- Ahn GY, Butt KI, Jindo T, Yaguchi H, Tsuboi R, Ogawa H. The expression of endothelin-1 and its binding sites in mouse skin increased after ultraviolet B irradiation or local injection of tumor necrosis factor alpha. *J Dermatol* 1998; 25(2): 78-84.
- Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 1994; 46(3): 325-415.
- Lalich M, McNeel DG, Wilding G, Liu G. Endothelin receptor antagonists in cancer therapy. *Cancer Invest* 2007; 25(8): 785-794.
- Masaki T. Historical review: Endothelin. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(4): 219-224.
- Luscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* 2000; 102(19): 2434-2440.
- Masaki T. Endothelins: homeostatic and compensatory actions in the circulatory and endocrine systems. *Endocr Rev* 1993; 14(3): 256-268.
- Hunter AR, Turner AJ. Expression and localization of endothelin-converting enzyme-1 isoforms in human endothelial cells. *Exp Bio Med* 2006; 231(6): 718-722.
- Carducci MA, Jimeno A. Targeting bone metastasis in prostate cancer with endothelin receptor antagonists. *Clin Cancer Res* 2006; 12(20 Pt 2): 6296s-6300s.
- Copes ES, Nelson JB, Carducci MA. Endothelin-1 as a target for therapeutic intervention in prostate cancer. *Invest New Drugs* 2002; 20(2): 173-182.
- Moreau P, d'Uscio LV, Shaw S, Takase H, Barton M, Luscher TF. Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy: reversal by ET(A)-receptor antagonist. *Circulation* 1997; 96(5): 1593-1597.
- Pomonis JD, Rogers SD, Peters CM, Ghilardi JR, Mantyh PW. Expression and localization of endothelin receptors: implications for the involvement of peripheral glia in nociception. *J Neurosci* 2001; 21(3): 999-1006.
- Naidoo V, Naidoo S, Mahabeer R, Raidoo DM. Cellular distribution of the endothelin system in the human brain. *J Chem Neuroanat* 2004; 27(2): 87-98.
- Gu P, Fan T, Wong SSC, Pan Z, Tai WL, Chung SK, Cheung CW. Central endothelin-1 confers analgesia by triggering spinal neuronal histone deacetylase 5 (HDAC5) nuclear exclusion in peripheral neuropathic pain in mice. *J Pain* 2021; 22(4): 454-471.
- Nilsson T, Cantera L, Adner M, Edvinsson L. Presence of contractile endothelin-A and dilatory endothelin-B receptors in human cerebral arteries. *Neurosurgery* 1997; 40(2): 346-351.
- Xu J, Li P, Lu F, Chen Y, Guo Q, Yang Y. Domino reaction of neurovascular unit in neuropathic pain after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2023; 359: 114273.
- Walter L, Franklin A, Witting A, Moller T, Stella N. Astrocytes in culture produce anandamide and other acylethanolamides. *J Biol Chem* 2002; 277(23): 20869-20876.
- Schinelli S. Pharmacology and physiopathology of the brain endothelin system: an overview. *Curr Med Chem* 2006; 13(6): 627-638.
- Morga E, Faber C, Heuschling P. Stimulation of endothelin B receptor modulates the inflammatory activation of rat as-

- trocytes. *J Neurochem* 2000; 74(2): 603-612.
- 19 Hasselblatt M, Bunte M, Dringen R, Tabernero A, Medina JM, Giaume C, Sirén AL, Ehrenreich H. Effect of endothelin-1 on astrocytic protein content. *Glia* 2003; 42(4): 390-397.
 - 20 Ozturk A, Erdogan H, Ekici F, Aydın D, Sogut E. Effects of endothelin-a receptor antagonist BQ-123 on plasma leptin levels streptozotocin induced diabetic rats. *W Indian Med J* 2016; 11(6): 1239-1248.
 - 21 Khodorova A, Montmayeur JP, Strichartz G. Endothelin receptors and pain. *J Pain* 2009; 10: 4-28.
 - 22 Vong CT, Chen Y, Chen Z, Gao C, Yang F, Wang S, Wang Y. Classical prescription Dachuanxiong Formula delays nitroglycerin-induced pain response in migraine mice through reducing endothelin-1 level and regulating fatty acid biosynthesis. *J Ethnopharmacol* 2022; 288: 114992.
 - 23 Patel M, Harris N, Kasztan M, Hyndman KA. Comprehensive analysis of the endothelin system in the kidneys of mice, rats, and humans. *Biosci Rep* 2024; 44(7): BSR20240768.
 - 24 Ebersberger A, Schaible HG. Do cytokines play a role in the transition from acute to chronic musculoskeletal pain? *Pharmacol Res* 2025; 212: 107585.
 - 25 Allison RL, Welby E, Ehlers V, Burand A, Isaeva O, Nieves Torres D, Highland J, Brandow AM, Stucky CL, Ebert AD. Sick cell disease iPSC-derived sensory neurons exhibit increased excitability and sensitization to patient plasma. *Blood* 2024; 143(20): 2037-2052.
 - 26 Raffa RB, Schupsky JJ, Jacoby HI. Endothelin-induced nociception in mice: mediation by ETA and ETB receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276: 647-651.
 - 27 Werner MF, Trevisani M, Campi B, André E, Geppetti P, Rae GA. Contribution of peripheral endothelin ETA and ETB receptors in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in rats. *Eur J Pain* 2010; 14: 911-917.
 - 28 Pontes RB, Lisboa MRP, Pereira AF, Lino JA, de Oliveira FFB, de Mesquita AKV, de Freitas Alves BW, Lima-Júnior RCP, Vale ML. Involvement of endothelin receptors in peripheral sensory neuropathy induced by oxaliplatin in mice. *Neurotox Res* 2019; 36: 688-699.
 - 29 Matsuura K, Sakai A, Watanabe Y, Mikahara Y, Sakamoto A, Suzuki H. Endothelin receptor type A is involved in the development of oxaliplatin-induced mechanical allodynia and cold allodynia acting through spinal and peripheral mechanisms in rats. *Mol Pain* 2021; 17: 17448069211058004.
 - 30 Hasue F, Kuwaki T, Yamada H, Fukuda Y, Shimoyama M. Inhibitory actions of endothelin-1 on pain processing. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44(Suppl 1): S318 - S320.
 - 31 Lomba LA, Cruz JV, Coelho LCM, Leite-Avalca MCG, Correia D, Zampronio AR. Role of central endothelin-1 in hyperalgesia, anhedonia, and hypolocomotion induced by endotoxin in male rats. *Exp Brain Res* 2021; 239(1): 267-277.
 - 32 Yamamoto H, Kawamata T, Ninomiya T, Omote K, Namiki A. Endothelin-1 enhances capsaicin-evoked intracellular Ca²⁺ response via activation of endothelin a receptor in a protein kinase Cepsilon-dependent manner in dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 2006; 137(3): 949-960.
 - 33 Montmayeur JP, Barr TP, Kam SA, Packer SJ, Strichartz GR. ET-1 induced Elevation of intracellular calcium in clonal neuronal and embryonic kidney cells involves endogenous endothelin-A receptors linked to phospholipase C through Gα(q/11). *Pharmacol Res* 2011; 64(3): 258-267.
 - 34 Yohn JJ, Smith C, Stevens T, Morelli JG, Shurnas LR, Walchak SJ, Hoffman TA, Kelley KK, Escobedo-Morse A, Yanagisawa M, Kane MA, Zamora MR. Autoregulation of endothelin-1 secretion by cultured human keratinocytes via the endothelin B receptor. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1224(3): 454-458.
 - 35 Kawamata T, Ji W, Yamamoto J, Niiyama Y, Furuse S, Omote K, Namiki A. Involvement of transient receptor potential vanilloid subfamily 1 in endothelin-1-induced pain-like behavior. *Neuroreport* 2009; 20(3): 233-237.
 - 36 Numazaki M, Tominaga T, Toyooka H, Tominaga M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues. *J Biol Chem* 2002; 277(16): 13375-13378.
 - 37 Plant TD, Zöllner C, Kepura F, Mousa SS, Eichhorst J, Schaefer M, Furkert J, Stein C, Oksche A. Endothelin potentiates TRPV1 via ETA receptor-mediated activation of protein kinase C. *Mol Pain* 2007; 3: 35.
 - 38 Khasar SG, Lin YH, Martin A, Dadgar J, McMahon T, Wang D, Hundle B, Aley KO, Isenberg W, McCarter G, Green PG, Hodge CW, Levine JD, Messing RO. A novel nociceptor signaling pathway revealed in protein kinase C epsilon mutant mice. *Neuron* 1999; 24(1): 253-260.
 - 39 Zhou Z, Davar G, Strichartz G. Endothelin-1 (ET-1) selectively enhances the activation gating of slowly inactivating tetrodotoxin-resistant sodium currents in rat sensory neurons: a mechanism for the pain-inducing actions of ET-1. *J Neurosci* 2002; 22(15): 6325-6330.
 - 40 Lee CH, Chen CC. Roles of ASICs in nociception and proprioception. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1099: 37-47.
 - 41 Wu L, Liu TT, Jin Y, Wei S, Qiu CY, Hu WP. Endothelin-1 enhances acid-sensing ion channel currents in rat primary sensory neurons. *Acta Pharmacol Sin* 2020; 41(8): 1049-1057.
 - 42 Malin S, Molliver D, Christianson JA, Schwartz ES, Cornuet P, Albers KM, Davis BM. TRPV1 and TRPA1 function and modulation are target tissue dependent. *J Neurosci* 2011; 31(29): 10516-10528.
 - 43 Zheng X, Tai Y, He D, Liu B, Wang C, Shao X, Jordt SE,

- Liu B. ETAR and protein kinase A pathway mediate ET-1 sensitization of TRPA1 channel: A molecular mechanism of ET-1-induced mechanical hyperalgesia. *Mol Pain* 2019; 15: 1744806919842473.
- 44 Kawate T, Michel JC, Birdsong WT, Gouaux E. Crystal structure of the ATP-gated P2X(4) ion channel in the closed state. *Nature* 2009; 460(7255): 592-598.
- 45 Jin Y, Qiu CY, Wei S, Han L, Liu TT, Hu WP. Potentiation of P2X3 receptor mediated currents by endothelin-1 in rat dorsal root ganglion neurons. *Neuropharmacol* 2020; 181: 108356.
- 46 Kuroda Y, Nonaka M, Kamikubo Y, Ogawa H, Murayama T, Kurebayashi N, Sakairi H, Miyano K, Komatsu A, Dodo T, Nakano-Ito K, Yamaguchi K, Sakurai T, Iseki M, Hayashida M, Uezono Y. Inhibition of endothelin A receptor by a novel, selective receptor antagonist enhances morphine-induced analgesia: Possible functional interaction of dimerized endothelin A and μ -opioid receptors. *Biomed Pharmacother* 2021; 141: 111800.
- 47 Khodorova A, Zou S, Ren K, Dubner R, Davar G, Strichartz G. Dual roles for endothelin-B receptors in modulating adjuvant-induced inflammatory hyperalgesia in rats. *Open Pain J* 2009; 2: 30-40.
- 48 Mujenda FH, Duarte AM, Reilly EK, Strichartz GR. Cutaneous endothelin-A receptors elevate post-incisional pain. *Pain* 2007; 133: 161-173.
- 49 Jarvis MF, Wessale JL, Zhu CZ, Lynch JJ, Dayton BD, Calzadilla SV, Padley RJ, Opgenorth TJ, Kowaluk EA. ABT-627, an endothelin ET(A) receptor-selective antagonist, attenuates tactile allodynia in a diabetic rat model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2000; 388(1): 29-35.
- 50 Tang J, Sun Z, Wang Y, Liu J, Wang S, Wang X. Effect and mechanism of endothelin receptor A inhibitor BQ-123 combined with electroacupuncture on tibia cancer pain in rats. *Dis Markers* 2022; 2022: 8563202.
- 51 Kidd BL, Urban LA. Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth* 2001; 87(1): 3-11.
- 52 Daher JB, Souza GE, D'Orléans-Juste P, Rae GA. Endothelin ETB receptors inhibit articular nociception and priming induced by carrageenan in the rat knee-joint. *Eur J Pharmacol* 2004; 496(1-3): 77-85.
- 53 Ji RR, Strichartz G. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. *Sci STKE* 2004; 2004(252): reE14.
- 54 Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice ASC, Treede RD. A new definition of neuropathic pain. *Pain* 2011; 152(10): 2204-2205.
- 55 Meacham K, Shepherd A, Mohapatra DP, Haroutounian S. Neuropathic pain: central vs. peripheral mechanisms. *Curr Pain Headache Rep* 2017; 21(6): 28.
- 56 Cameron NE, Cotter MA. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes* 1997; 46 Suppl 2: S31-S37.
- 57 Russo MM, Sundaramurthi T. An overview of cancer pain: epidemiology and pathophysiology. *Semin Oncol Nurs* 2019; 35(3): 223-228.
- 58 Bagnato A, Rosano L. The endothelin axis in cancer. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(8): 1443-1451.
- 59 Goblirsch MJ, Zwolak PP, Clohisy DR. Biology of bone cancer pain. *Clin Cancer Res* 2006; 12(20 Pt 2): 6231s-6235s.
- 60 Arndt PF, Turkowski K, Cekay MJ, Eul B, Grimminger F, Savai R. Endothelin and the tumor microenvironment: a finger in every pie. *Clin Sci (Lond)* 2024; 138(11): 617-634.
- 61 Yin JJ, Mohammad KS, Kakonen SM, Harris S, Wu-Wong JR, Wessale JL, Padley RJ, Garrett IR, Chirgwin JM, Guise TA. A causal role for endothelin-1 in the pathogenesis of osteoblastic bone metastases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(19): 10954-10959.
- 62 Pickering V, Jay Gupta R, Quang P, Jordan RC, Schmidt BL. Effect of peripheral endothelin-1 concentration on carcinoma-induced pain in mice. *Eur J Pain* 2008; 12(3): 293-300.
- 63 Wacnik PW, Eikmeier LJ, Ruggles TR, Ramnaraine ML, Walcheck BK, Beitz AJ, Wilcox GL. Functional interactions between tumor and peripheral nerve: morphology, algogen identification, and behavioral characterization of a new murine model of cancer pain. *J Neurosci* 2001; 21(23): 9355-9366.
- 64 Greco C, Basso L, Désormeaux C, Fournel A, Demuynck B, Lafendi L, Chapiro S, Lemoine A, Zhu YY, Knauf C, Cenac N, Boucheix C, Dietrich G. Endothelin-1 exhibiting pro-nociceptive and pro-peristaltic activities is increased in peritoneal carcinomatosis. *Front Pain Res (Lausanne)* 2021; 2: 613187.
- 65 Forner S, Martini AC, Andrade EL, Rae GA. Neuropathic pain induced by spinal cord injury: Role of endothelin ETA and ETB receptors. *Neurosci Lett* 2016; 617: 14-21.
- 66 Chan KW, Smeijer JD, Schechter M, Jongs N, Vart P, Kohan DE, Gansevoort RT, Liew A, Tang SCW, Wanner C, de Zeeuw D, Heerspink HJL. Post hoc analysis of the SONAR trial indicates that the endothelin receptor antagonist atrasentan is associated with less pain in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Kidney Int* 2023; 104(6): 1219-1226.
- 67 Heerspink HJL, Parving HH, Andress DL, Bakris G, Correa-Rotter R, Hou FF, Kitzman DW, Kohan D, Makino H, McMurray JJV, Melnick JZ, Miller MG, Pergola PE, Perkovic V, Tobe S, Yi T, Wigderson M, de Zeeuw D; SONAR Committees and Investigators. Atrasentan and renal events in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease (SONAR): a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2019; 393(10184): 1937-1947.

- 68 Serafim KG, Navarro SA, Zapperon AC, Pino Ribeiro FA, Fattori V, Cunha TM, Alves-Filho JC, Cunha FQ, Casagrande R, Verri WA Jr. Bosentan, a mixed endothelin receptor antagonist, inhibits superoxide anion-induced pain and inflammation in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2015; 388(11): 1211-1221.
- 69 Schmidt-Ott KM, Tuschick S, Kirchhoff F, Verkhatsky A, Liefeldt L, Kettenmann H, Paul M. Single-cell characterization of endothelin system gene expression in the cerebellum *in situ*. *J Cardiovas Pharmacol* 1998; 31 Suppl 1: S364-S366.