

Elevati livelli circolanti di adrenomedullina e di endotelina-1 nell'obesità associata ad ipertensione arteriosa

Claudio Letizia, Massimiliano Celi, Sabrina Cerci, Luigi Scuro, Enrica Delfini, Stefano Subioli, Chiara Caliumi, Emilio D'Erasmus

Cattedra di Medicina Interna, Dipartimento di Scienze Cliniche, Università degli Studi "La Sapienza", Roma

Key words:
Adrenomedullin;
Arterial hypertension;
Endothelin-1; Obesity.

Background. The aim of the study was to investigate the behavior of two endothelial vasoactive peptides, adrenomedullin (vasodilator) and endothelin-1 (vasoconstrictor), in human obesity with and without arterial hypertension.

Methods. The study was carried out on 30 obese subjects (body mass index > 27 kg/m²) divided into two groups: 15 normotensive obese patients (10 males, 5 females, mean age 42 ± 12 years) and 15 hypertensive obese patients (9 males, 6 females, mean age 42 ± 13 years). The control group consisted of 21 normal subjects (12 males, 9 females, mean age 38 ± 12 years) and of 16 patients with essential hypertension (10 males, 6 females, mean age 41 ± 12 years) but without organ damage. All studied subjects were taking a normocaloric (20-22 kcal/kg/day), normosodic (120-140 mEq/day) and normopotassic (50-60 mEq/day) diet. Between 8.00 and 9.00 a.m., a venous blood sample was taken for the determination (radioimmunoassay) of plasma adrenomedullin and endothelin-1 concentrations.

Results. Plasma adrenomedullin levels in normal subjects (13.7 ± 6.1 pg/ml) were similar to those in normotensive obese patients (14.8 ± 7.2 pg/ml), whereas in hypertensive obese patients (22.5 ± 9.1 pg/ml) and in those with essential hypertension (22.7 ± 8.2 pg/ml) levels were significantly higher (ANOVA = 0.000, p < 0.05) than those of normal subjects and of normotensive obese patients. Moreover, endothelin-1 plasma concentrations were found to be significantly higher (ANOVA = 0.000, p < 0.05) in hypertensive obese patients (10.3 ± 2.7 pg/ml) compared to normal subjects (6.5 ± 2.4 pg/ml), normotensive obese patients (8.3 ± 1.5 pg/ml) and to those with essential hypertension (8.5 ± 2.9 pg/ml). In patients with essential hypertension, a positive correlation (r = 0.493, p < 0.05) was found between adrenomedullin and endothelin-1 plasma levels.

Conclusions. These results revealed that in human obesity associated with arterial hypertension there is an increased production of plasma adrenomedullin and endothelin-1 that, with their opposite vasoactive properties (vasodilation/vasoconstriction), can contribute to this pathological association.

(Ital Heart J Suppl 2001; 2 (9): 1011-1015)

© 2001 CEPI Srl

Ricevuto il 22 febbraio 2001; nuova stesura il 4 giugno 2001; accettato il 4 luglio 2001.

Per la corrispondenza:

Prof. Claudio Letizia

Cattedra di
Medicina Interna
Dipartimento di
Scienze Cliniche
Università degli Studi
"La Sapienza"
Policlinico Umberto I
Viale del Policlinico, 155
00161 Roma
E-mail: claudio.letizia@uniroma1.it

Introduzione

L'esistenza di una relazione tra peso corporeo ed elevati livelli pressori arteriosi rappresenta un'acquisizione tutt'altro che recente¹. In particolare, negli obesi l'ipertensione arteriosa è presente con una frequenza pari al 30-50%, ed alcuni studi longitudinali² dimostrano che i valori pressori aumentano con l'incremento ponderale e diminuiscono significativamente con la riduzione di questo. Entrambe le condizioni costituiscono un importante fattore di rischio cardiovascolare^{3,4} e talora si accompagnano ad altre turbe metaboliche come le dislipidemie, l'iperuricemia, l'intolleranza ai carboidrati o a diabete mellito di tipo 2.

L'analisi dei meccanismi e delle modalità di insorgenza dell'ipertensione arteriosa nell'obeso è stata oggetto di diversi stu-

di^{5,6}. Un ruolo fondamentale sembra essere riconosciuto ai fattori genetico-ambientali^{7,8} ed importanti sembrano essere anche l'iperinsulinismo e l'insulino-resistenza⁹, l'ipertono simpatico¹⁰ e l'azione svolta da alcuni ormoni sodio-regolatori (aldosterone, fattore natriuretico atriale)^{11,12}.

Recenti studi hanno dimostrato una chiara azione modulante dell'endotelio sul tono vascolare¹³ e questa sarebbe in parte espletata attraverso la sintesi e la secrezione di diverse sostanze vasoattive tra cui l'ossido nitrico (vasodilatatore)¹⁴, l'endotelina-1 (vasocostrittore)¹⁵ e l'adrenomedullina (vasodilatatore)^{16,17}. Queste sostanze vasoattive sembrano occupare un importante ruolo nella regolazione del tono vascolare e dell'omeostasi pressoria¹⁴⁻¹⁷.

Scopo del nostro studio è stato quello di valutare il comportamento dei livelli circo-

lanti di endotelina-1 e di adrenomedullina in pazienti affetti da obesità ed ipertensione arteriosa confrontandoli con quelli di soggetti normali e con quelli di ipertesi essenziali.

Materiali e metodi

Soggetti. Sono stati reclutati per lo studio 67 consecutivi soggetti così suddivisi: 15 soggetti obesi normotesi (10 maschi, 5 femmine, età media 42 ± 12 anni) con indice di massa corporea (BMI) $> 27 \text{ kg/m}^2$; 15 soggetti obesi ed ipertesi (9 maschi, 6 femmine, età media 42 ± 13 anni) con BMI $> 27 \text{ kg/m}^2$; 16 soggetti ipertesi essenziali normopeso (10 maschi, 6 femmine, età media 41 ± 12 anni) con BMI $< 27 \text{ kg/m}^2$, esenti da complicanze d'organo (I stadio WHO); 21 soggetti normali sani (12 maschi, 9 femmine, età media 38 ± 12 anni).

La diagnosi di ipertensione arteriosa essenziale era stabilita, prima dello studio, basandosi sull'assenza di storia clinica e dati di laboratorio: in particolare, normali valori degli elettroliti plasmatici ed urinari, della funzionalità renale, dell'acido vanilmandelico sulle urine delle 24 ore, dell'attività reninica plasmatica, degli ormoni tiroidei e del ricambio minerale calcio-fosforico.

Tutti i partecipanti allo studio sono stati sottoposti ad un regime dietetico normocalorico (20-22 kcal/kg/die, costituito da 50% carboidrati, 18% proteine e 32% grassi), normosodico (120-140 mEq/die) e normopotassico (50-60 mEq/die) per almeno 2 settimane.

Tutti i soggetti erano non fumatori ed i pazienti ipertesi che assumevano farmaci antipertensivi, erano in wash-out farmacologico da almeno 2 settimane. Venivano esclusi dallo studio i pazienti con alterazioni della funzione renale, diabetici, tireopatici, epatopatici, cardiopatici e pneumopatici.

La pressione arteriosa veniva misurata con uno sfigmomanometro a mercurio dopo che il paziente restava sdraiato per 30 min in una stanza isolata. La media di tre misurazioni era usata per determinare i valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica.

Protocollo dello studio. I campionamenti di sangue venoso, per la determinazione dell'adrenomedullina e dell'endotelina-1, venivano effettuati tra le ore 8.00 e le ore 9.00, con soggetti a digiuno dalla sera precedente e

che mantenevano la posizione supina da almeno 60 min.

La determinazione delle concentrazioni plasmatiche di adrenomedullina, dopo estrazione e purificazione su colonne Sep-Pak C-18, è stata effettuata con metodica radioimmunologica (Phoenix Lab, Mountain View, CA, USA) come da noi precedentemente riportato¹⁸. Il coefficiente di variazione intra ed intersaggio era rispettivamente del 5 e del 12%.

Le concentrazioni di endotelina-1 nel plasma, dopo estrazione, sono state effettuate con metodo radioimmunologico (Peninsula Lab, Belmont, CA, USA) con recupero della procedura di estrazione pari al 90%¹⁹. Il coefficiente di variazione intra ed intersaggio era rispettivamente del 9 e del 12%.

Tutte le determinazioni sono state effettuate in doppio e le concentrazioni plasmatiche di entrambi i peptidi sono espresse in pg/ml.

Analisi statistica. L'elaborazione dei dati è stata eseguita mediante un computer IBM dotato di software Primer. Per ogni gruppo di variabili è stata calcolata la media $\pm$ DS. L'analisi statistica è stata eseguita con l'analisi della varianza (ANOVA) seguita dal test t di Bonferroni. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Nella tabella I sono riportati i valori medi della pressione arteriosa e del BMI riscontrati nei vari gruppi presi in esame. Come atteso i valori di pressione arteriosa negli obesi ipertesi e negli ipertesi essenziali erano significativamente più elevati ($p < 0.05$) rispetto agli obesi normotesi ed ai soggetti normali ed il BMI negli obesi normotesi e negli obesi ipertesi era significativamente maggiore ($p < 0.05$) rispetto agli altri due gruppi di controllo.

La figura 1 mostra il comportamento delle concentrazioni plasmatiche di adrenomedullina rinvenute nei gruppi esaminati. I livelli plasmatici di adrenomedullina nei soggetti normali ($13.7 \pm 6.1 \text{ pg/ml}$) erano sovrapponibili a quelli degli obesi normotesi ($14.8 \pm 7.2 \text{ pg/ml}$, $p > 0.05$), mentre negli obesi ipertesi ($22.5 \pm 9.1 \text{ pg/ml}$) e negli ipertesi essenziali ($22.7 \pm 8.2 \text{ pg/ml}$) era-

Tabella I. Indice di massa corporea (BMI); pressione arteriosa sistolica (PAS) e diastolica (PAD) e frequenza cardiaca (FC) nei gruppi studiati.

Gruppi	BMI (kg/m^2)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	FC (b/min)
Obesi normotesi (n=15)	$32.5 \pm 3.5^*$	130 ± 6	80 ± 6	70 ± 5
Obesi ipertesi (n=15)	$33.3 \pm 3.1^*$	$155 \pm 10^{**}$	$99 \pm 4^{**}$	71 ± 6
Ipertesi essenziali (n=16)	23.7 ± 1.6	$152 \pm 10^{**}$	$98 \pm 7^{**}$	72.7 ± 6
Soggetti normali (n=21)	23.5 ± 1.5	120 ± 6	76 ± 6	68 ± 4

* ANOVA = 0.000, $p < 0.05$ vs ipertesi essenziali e soggetti normali; ** ANOVA = 0.000, $p < 0.05$ vs soggetti normali ed obesi normotesi.

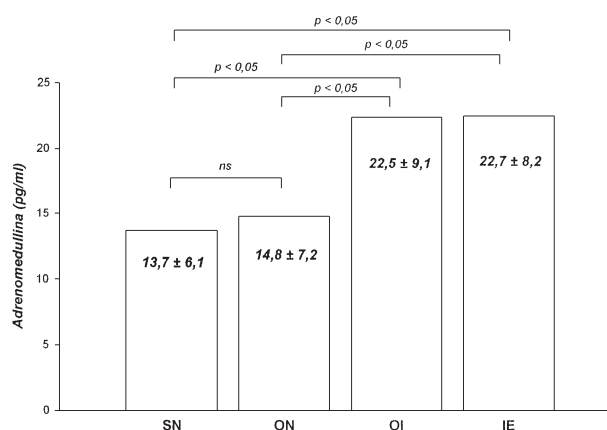


Figura 1. Livelli medi circolanti di adrenomedullina nei gruppi esaminati. IE = ipertesi essenziali; OI = obesi ipertesi; ON = obesi normotesi; SN = soggetti normali.

no parimenti e significativamente più elevati (ANOVA = 0.000, $p < 0.05$) rispetto a quelli dei soggetti normali ed a quelli degli obesi normotesi. Nessuna differenza statisticamente significativa ($p > 0.05$) è stata riscontrata tra i livelli circolanti di adrenomedullina degli obesi ipertesi e quelli degli ipertesi essenziali.

La figura 2 mostra il comportamento dei livelli medi circolanti di endotelina-1. Le concentrazioni plasmatiche dell'endotelina-1 negli obesi ipertesi (10.3 ± 2.7 pg/ml) erano significativamente più elevate (ANOVA = 0.000, $p < 0.05$) rispetto a quelli dei soggetti normali (6.5 ± 2.4 pg/ml), degli obesi normotesi (8.3 ± 1.5 pg/ml) ed a quelle degli ipertesi essenziali (8.5 ± 2.9 pg/ml). Nessuna differenza statisticamente significativa ($p > 0.05$) è stata rinvenuta tra i livelli circolanti di endotelina-1 degli obesi normotesi e quelli dei soggetti normali e tra quelli degli ipertesi essenziali e quelli dei soggetti normali ($p > 0.05$).

Lo studio delle correlazioni ha mostrato negli ipertesi essenziali una correlazione significativa e positiva ($r = 0.493$, $p < 0.05$) tra i livelli plasmatici di adrenomedullina e quelli di endotelina-1 (Fig. 3), mentre nessuna correlazione è stata rinvenuta nei pazienti obesi

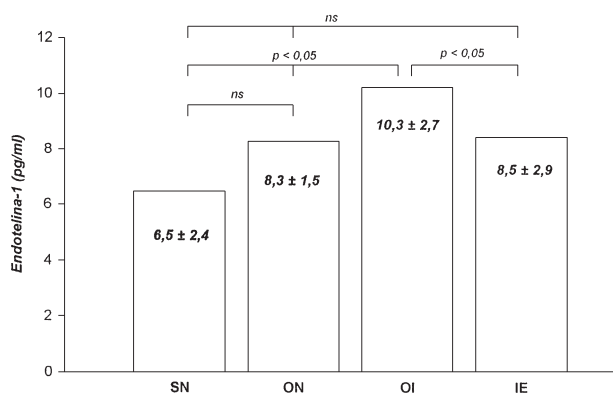


Figura 2. Livelli medi circolanti di endotelina-1 nei gruppi esaminati. Abbreviazioni come in figura 1.

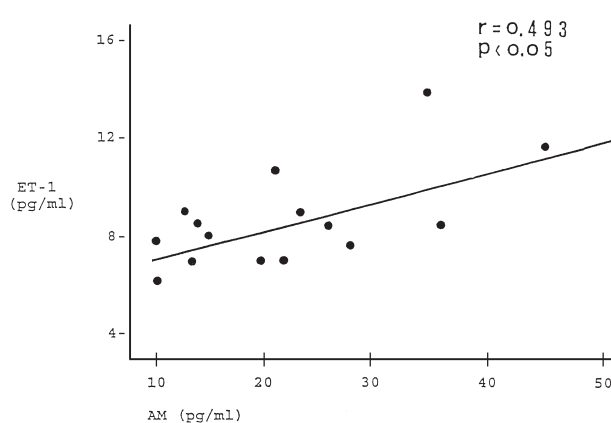


Figura 3. Correlazione tra i livelli plasmatici di adrenomedullina (AM) e di endotelina-1 (ET-1) negli ipertesi essenziali normopeso.

ipertesi tra i livelli circolanti di adrenomedullina e quelli di endotelina-1 ($r = 0.358$, $p = 0.642$).

Nei restanti gruppi esaminati, nessuna correlazione è stata rinvenuta tra i due peptidi vasoattivi ed i parametri emodinamici.

Discussione

Scopo della nostra ricerca è stato quello di investigare il comportamento dei livelli circolanti di due peptidi vasoattivi, adrenomedullina ed endotelina-1, nell'obesità associata ad ipertensione arteriosa. I risultati dello studio hanno mostrato delle modificazioni significative dei livelli circolanti di adrenomedullina e di endotelina-1 negli obesi ipertesi con un legame che sembra essere più stretto rispetto a quello dello stato ipertensivo isolato. Infatti, negli ipertesi essenziali i livelli circolanti di adrenomedullina appaiono aumentati mentre quelli di endotelina-1 sono sovrapponibili a quelli dei soggetti sani ed a quelli degli obesi normotesi.

Questo comportamento dell'endotelina-1 nell'ipertensione arteriosa essenziale conferma, in parte, quello già osservato da altri autori^{20,21}. In particolare, nell'ipertensione arteriosa essenziale i livelli circolanti di endotelina-1 sono sovrapponibili a quelli dei soggetti normali sani^{20,21}, mentre si riscontrano elevati nei pazienti ipertesi con danno renale²².

Altre forme di ipertensione arteriosa umana in cui sono state rilevate significative modificazioni plasmatiche dell'endotelina-1 comprendono i rari casi di emangioendelioma²³, l'insufficienza renale cronica²⁴, l'ipertensione indotta da ciclosporina²⁵, il feocromocitoma²⁶ e l'ipertensione in gravidanza^{27,28}.

Di contro, negli ipertesi essenziali senza danno d'organo, i livelli circolanti di adrenomedullina si confermano aumentati²⁹ e questo incremento può essere ascrivito più alla disfunzione endoteliale³⁰ che ai valori pressori. Infatti, è stato dimostrato come il trattamento con calcioantagonisti (nifedipina, nicardipina, amlodi-

pina), pur riducendo significativamente i valori pressori nei pazienti ipertesi, non modifica i livelli circolanti di adrenomedullina³⁰.

A comprendere il comportamento delle concentrazioni plasmatiche dell'adrenomedullina e dell'endotelina-1 nei nostri pazienti affetti da obesità ed ipertensione arteriosa contribuiscono alcuni rilievi sperimentali e clinici. Fondamentalmente, l'adrenomedullina è un potente peptide vasodilatatore con proprietà diuretiche e natriuretiche¹⁷ e di contro l'endotelina-1 è un vasocostrittore¹⁵ ed entrambi i peptidi agiscono a livello delle cellule muscolari lisce vascolari. Nel ratto anestetizzato¹⁷ e nell'uomo³¹ l'infusione intravenosa di adrenomedullina provoca una marcata e lunga azione ipotensiva associata a decremento delle resistenze vascolari periferiche, mentre l'infusione di endotelina-1 provoca un aumento della pressione arteriosa sistemica a seguito di un aumento delle resistenze periferiche¹⁵. Pertanto entrambi i peptidi possiedono un'azione vasoattiva ma di tipo contrario: l'adrenomedullina vasodilata, mentre l'endotelina-1 vasocostringe. A favore di una possibile correlazione tra l'adrenomedullina e l'endotelina-1 nell'ipertensione arteriosa ed in particolare in quella associata ad obesità, c'è l'osservazione che le cellule endoteliali vascolari sintetizzano e secernono adrenomedullina al pari di quanto accade per l'endotelina-1¹⁶.

Inoltre, dati sperimentali dimostrano che l'adrenomedullina è in grado di inibire *in vitro* la produzione di endotelina-1 agendo sulle cellule muscolari lisce vascolari attraverso un meccanismo AMP ciclico-mediato³². Alcuni autori³³ hanno riportato, negli obesi ipertesi, un aumento dei livelli circolanti di endotelina-1 che si correlano con quelli dell'insulina basale a digiuno. Poiché l'insulino-resistenza è una condizione propria dell'obesità³⁴ ma anche dell'ipertensione arteriosa essenziale³⁵ si può ipotizzare che nell'obesità associata ad ipertensione la produzione in eccesso di endotelina-1 giochi un ruolo nella patogenesi di questa patologia e che la produzione in eccesso di adrenomedullina serva, in parte, a contrastare l'azione della stessa endotelina-1.

Questa ipotesi è suffragata, in parte, da alcuni rilievi sperimentali che hanno dimostrato una capacità da parte dell'adrenomedullina di ridurre *in vitro* la sintesi di insulina da parte delle cellule insulari pancreatiche e inoltre, l'effetto natriuretico/diuretico dell'adrenomedullina³⁶ può controbilanciare l'azione renale dell'endotelina-1.

Nonostante a tutt'oggi non sia ben conosciuto l'esatto meccanismo con il quale l'adrenomedullina e l'endotelina-1 partecipino alla regolazione della pressione arteriosa nell'obesità, queste nostre osservazioni suggeriscono che questi due peptidi vasoattivi occupano un ruolo nella fisiopatologia di questa condizione morbosa.

A tal riguardo, ulteriori studi sono necessari per comprendere il giusto ruolo che queste sostanze vasoattive occupano nell'obesità associata all'ipertensione arteriosa.

Riassunto

Razionale. L'esistenza di una relazione tra obesità ed ipertensione arteriosa è ampiamente documentata da numerosi studi epidemiologici, ma a tutt'oggi l'eziopatogenesi di questa associazione è tutt'altro che chiarita. Scopo del nostro studio è stato quello di investigare il comportamento di due peptidi vasoattivi di origine endoteliale vascolare, l'adrenomedullina (vasodilatatore) e l'endotelina-1 (vasocostrittore), nell'obesità associata o non all'ipertensione arteriosa.

Materiali e metodi. Lo studio è stato condotto in 30 soggetti obesi (indice di massa corporea > 27 kg/m²) suddivisi in due gruppi: 1) 15 obesi normotesi (10 maschi, 5 femmine, età media 42 ± 12 anni); 15 obesi ipertesi (9 maschi, 6 femmine, età media 42 ± 13 anni). Il gruppo di controllo era costituito da 21 soggetti normali (12 maschi, 9 femmine, età media 38 ± 12 anni) e da 16 ipertesi essenziali (10 maschi, 6 femmine, età media 41 ± 12 anni) esenti da danno d'organo. Tutti i soggetti studiati sono stati sottoposti ad una dieta normocalorica (20-22 kcal/kg/die) ed a normale contenuto di sodio (120-140 mEq/die) e di potassio (50-60 mEq/die). In posizione clinostatica da almeno 60 min, tra le ore 8.00 e le ore 9.00, da un'agocannula venivano prelevati campioni di sangue venoso per la determinazione (metodo radioimmunologico) di adrenomedullina e di endotelina-1.

Risultati. I livelli plasmatici di adrenomedullina nei soggetti normali (13.7 ± 6.1 pg/ml) erano sovrapponibili a quelli degli obesi normotesi (14.8 ± 7.2 pg/ml), mentre negli obesi ipertesi (22.5 ± 9.1 pg/ml) e negli ipertesi essenziali (22.7 ± 8.2 pg/ml) erano significativamente più elevati (ANOVA = 0.000, p < 0.05) rispetto a quelli dei soggetti normali ed a quelli degli obesi normotesi. Inoltre, le concentrazioni plasmatiche di endotelina-1 erano significativamente più elevate (ANOVA = 0.000, p < 0.05) negli obesi ipertesi (10.3 ± 2.7 pg/ml) rispetto a quelle dei soggetti normali (6.5 ± 2.4 pg/ml), degli obesi normotesi (8.3 ± 1.5 pg/ml) e degli ipertesi essenziali (8.5 ± 2.9 pg/ml). Negli ipertesi essenziali è stata rinvenuta una correlazione positiva (r = 0.493, p < 0.05) tra i livelli plasmatici di adrenomedullina e quelli di endotelina-1.

Conclusioni. Questi risultati indicano che nell'obesità associata ad ipertensione arteriosa esiste un'aumentata produzione plasmatica di adrenomedullina e di endotelina-1 che con le loro diverse proprietà vasoattive (vasodilatatrice/vasocostrittrice) possono occupare un ruolo nella patogenesi di questa patologia.

Parole chiave: Adrenomedullina; Endotelina-1; Ipertensione arteriosa; Obesità.

Ringraziamenti

Si ringrazia il Sig. Giovanni Clemente, tecnico di laboratorio, per la sua preziosa collaborazione tecnica.

Bibliografia

1. Faber A. Readings of blood pressure of 1000 healthy individuals aged 20-25 years: an anthropometric study. *Scand Arch Physiol* 1924; 45: 189.
2. Frohlich ED, Messerli FH, Reisin E, Dunn FG. The problem of obesity and hypertension. *Hypertension* 1983; 5 (Suppl 3): III71-III78.
3. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67: 968-77.
4. Peiris AN, Sothmann MS, Hoffmann RG, et al. Adiposity fat distribution and cardiovascular risk. *Ann Intern Med* 1989; 110: 867-72.
5. Dustan HP. Obesity and hypertension. *Diabetes Care* 1991; 14: 488-504.
6. Frohlich ED. Obesity and hypertension: hemodynamic aspects. *Ann Epidemiol* 1991; 1: 287-93.
7. Bouchard C. Current understanding of the etiology of obesity: genetic and non genetic factors. *Am J Clin Nutr* 1991; 53 (Suppl 6): 1561S-1565S.
8. Annett JL, Sing CF, Biron P, Mongeau JG. Familial aggregation of blood pressure and weight in adoptive families: estimation of relative contributions of genetic and common environmental factors to blood pressure correlations between family members. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 492-503.
9. Modan M, Halkin H, Halmog S, et al. Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 1985; 75: 809-17.
10. Sowers JR, Whitfield LA, Catania RA, et al. Role of sympathetic nervous system in blood pressure maintenance in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1181-6.
11. Rocchini AP, Katch VL, Grekin R, Moorehead C, Anderson J. Role of aldosterone in blood pressure regulation in obese adolescents. *Am J Cardiol* 1986; 57: 613-8.
12. Faloiu E, Giacchetti G, Mantero F. Obesity and hypertension. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 54-62.
13. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Mechanism of disease: regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323: 27-36.
14. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factors. *Nature* 1987; 327: 524-6.
15. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 322: 411-5.
16. Sugo S, Minamino N, Kangawa K, et al. Endothelial cells actively synthesize and secrete adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201: 1160-6.
17. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, et al. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 553-60.
18. Letizia C, Cerci S, Centanni M, et al. Circulating levels of adrenomedullin in patients with Addison's disease before and after corticosteroid treatment. *Clin Endocrinol* 1998; 48: 145-8.
19. Letizia C, Barilla F, Cerci S, et al. Dynamic exercise induces elevation of plasma levels of endothelin-1 in patients with coronary artery disease. *Angiology* 1995; 46: 819-26.
20. Davenport AP, Ashby MJ, Easton P, Ella S, Bedford J, Dickerson C. A sensitive radioimmunoassay measuring endothelin-like immunoreactivity in human plasma: comparison of levels in patients with essential hypertension and normotensive control subjects. *Clin Sci* 1990; 78: 261-4.
21. Letizia C, Cerci S, De Ciocchis A, D'Ambrosio C, Scuro L, Scavo D. Plasma endothelin-1 levels in normotensive and borderline hypertensive subjects during a standard cold-pressor test. *J Hum Hypertens* 1995; 9: 903-7.
22. Ergul S, Parish DC, Puett D, Ergul A. Racial differences in plasma endothelin-1 concentrations in individuals with essential hypertension. *Hypertension* 1996; 28: 652-5.
23. Yokokawa K, Tahara H, Kohno M, et al. Hypertension associated with endothelin-secreting malignant hemangioendothelioma. *Ann Intern Med* 1991; 114: 213-5.
24. Schichiri M, Hirata Y, Ando K, et al. Plasma endothelin levels in hypertension and chronic renal failure. *Hypertension* 1990; 15: 493-6.
25. Cairns HS, Rogerson M, Fairbanks LD, Westwick J, Neild GH. Endothelin and cyclosporin nephrotoxicity. *Lancet* 1988; 2: 1496-7.
26. Letizia C, De Toma G, Cerci S, et al. Plasma endothelin-1 in patients with aldosterone-producing adenoma and pheochromocytoma. *Clin Exp Hypertens* 1996; 18: 921-31.
27. Kamoi K, Sudo N, Ishibashi M, Yamaji T. Plasma endothelin-1 levels in patients with pregnancy-induced hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 1486-7.
28. Di Iorio R, Marinoni E, Anceschi MM, Emiliani S, Letizia C, Cosmi EV. Amniotic fluid endothelin-1 levels are increased in pregnancy-induced hypertension and intrauterine retardation. *Am J Reprod Immunol* 1996; 36: 260-3.
29. Ishimitsu T, Nishikimi T, Saito Y, et al. Plasma levels of adrenomedullin, a newly identified hypotensive peptide in patients with hypertension and renal failure. *J Clin Invest* 1994; 94: 2158-61.
30. Kohno M, Manehira T, Kano H, et al. Plasma adrenomedullin concentrations in essential hypertension. *Hypertension* 1996; 27: 102-7.
31. Lainchbury JC, Cooper GJ, Coy DH. Adrenomedullin: a hypotensive hormone in man. *Clin Sci* 1997; 92: 467-72.
32. Kohno M, Kano H, Horio T, Yakokawa K, Yasunari K, Takeida T. Inhibition of endothelin production by adrenomedullin in the vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 25: 1185-90.
33. Ferri C, Bellini C, Desideri G, et al. Plasma endothelin-1 levels in obese hypertension and normotensive men. *Diabetes* 1995; 44: 431-6.
34. Olefsky JM, Kolterman OG. Mechanisms of insulin resistance in obesity and non-insulin-dependent (type II) diabetes. *Am J Med* 1981; 70: 151-68.
35. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-7.
36. Martinez A, Weaver C, Lopez J, Bhathena SJ, Elsasser TH, Miller MJ. Regulation of insulin secretion and blood glucose metabolism by adrenomedullin. *Endocrinology* 1996; 137: 2626-32.