

Review Article

Endothelin receptor antagonist in chronic kidney disease

Kitjapong Choopun, Suwikran Wongpraphairot

*Division of Nephrology, Department of Internal Medicine,
Faculty of Medicine, Prince of Songkla University*

Abstract

Endothelin-1 is the most potent vasoconstrictor that regulates renal perfusion, controls glomerular arteriolar tone and stimulates inflammation and fibrosis leading to progressive chronic kidney disease. Endothelin-1 is derived mainly from endothelial cells and is synthesized by endothelin converting enzymes. Endothelin-1 activates through both endothelin A and endothelin B receptors. When activated through the endothelin A receptor, it results in vasculature vasoconstriction, mesangium proliferation, extracellular matrix accumulation, podocyte injury, proteinuria, tubulointerstitial fibrosis, inflammation and cell infiltration. In contrast, the outcomes of binding through the endothelin B receptor are vasodilation, decreased cellular proliferation and decreased inflammatory cells. Clinical studies report endothelin A-selective blocker has been demonstrated to reduce proteinuria, glomerular pressure and arterial stiffness in non-diabetic and diabetic kidney disease, particularly among patients taking angiotensin converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker at maximum tolerated dose. In conclusion, endothelin receptor antagonists represent promising drugs to delay progression in chronic kidney disease. Adverse effects such as fluid retention must be considered. This review article summarizes the pathogenesis of endothelins in chronic kidney disease and clinical trials of endothelin receptor antagonists.

Keywords: endothelin-1, endothelin A receptor, chronic kidney disease

Endothelin receptor antagonist ในโรคไตเรื้อรัง

กิจพงศ์ ชูพันธ์, สุวิกรานต์ วงศ์ประไพโรจน์

หน่วยโรคไต สาขาวิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

Endothelin-1 เป็นสารที่มีฤทธิ์มากสุดในการกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวเพื่อควบคุมการไหลเวียนโลหิตที่ไต แรงดันภายในโกลเมอรูลัส นอกจากนี้ยังกระตุ้นเซลล์การอักเสบและการเกิดพังพืดที่ไต นำไปสู่การเกิดโรคไตเรื้อรัง endothelin-1 ส่วนใหญ่สร้างมาจากเซลล์เยื่อหลอดเลือดโดย endothelin converting enzymes และออกฤทธิ์โดยการกระตุ้นผ่าน endothelin A receptor จะทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด การเพิ่มขึ้นของเซลล์ mesangium การสะสมของสารเมทริกซ์นอก การบาดเจ็บของ podocyte โปรตีนรั่วในปัสสาวะ พังพืดในเนื้อไต เพิ่มจำนวนเซลล์การอักเสบที่เนื้อไต ส่วนการกระตุ้นผ่าน endothelin B receptor จะทำให้เกิดหลอดเลือดขยายตัว ลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ mesangium ลดจำนวนเซลล์การอักเสบที่เนื้อไต จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า endothelin A-selective blocker สามารถลดโปรตีนในปัสสาวะ ลดความดันในโกลเมอรูลัส และลดการเกิดหลอดเลือดแข็งตัว ทั้งในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน และโรคไตเรื้อรังจากสาเหตุอื่น ๆ โดยการให้ร่วมกับ angiotensin converting enzyme inhibitor และ angiotensin receptor blocker จึงสามารถสรุปได้ว่า endothelin receptor antagonist เป็นยาที่สามารถชะลอความเสื่อมของโรคไตเรื้อรัง แต่ควรให้ในกลุ่มที่ไม่มีความเสี่ยงต่อการเกิดอาการคั่งคั่งของน้ำในร่างกาย บทความนี้ได้สรุปเนื้อหาพยาธิกำเนิดของ endothelin และการศึกษาของ endothelin receptor antagonists ในโรคไตเรื้อรัง

คำสำคัญ: endothelin-1, endothelin A receptor, โรคไตเรื้อรัง

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พญ. สุวิกรานต์ วงศ์ประไพโรจน์ หน่วยโรคไต สาขาวิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ 15 ถนนกาญจนาภิเษก อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110 Email: suwikranw@yahoo.com

บทนำ

ปัจจุบันอัตราการเกิดโรคไตเรื้อรังเพิ่มมากขึ้น สาเหตุส่วนใหญ่คือ โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคไตอักเสบ การเพิ่มขึ้นของแอลบูมินในปัสสาวะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของแรงดันในโกลเมอรูลัส และการลดลงของอัตราการกรองของไต ภาวะไตเรื้อรังระยะสุดท้าย อัตราการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด และเป็นตัวพยากรณ์การดำเนินโรคของโรคไตเรื้อรัง จากคำแนะนำของ Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2012 แนะนำให้ใช้ angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) หรือ angiotensin receptor blocker (ARB) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากทั้งโรคเบาหวานและจากสาเหตุอื่น ที่มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ เพื่อช่วยชะลอการเสื่อมของไตโดยการลดโปรตีนในปัสสาวะ และควบคุมความดันโลหิต¹ ในปัจจุบันได้มีความพยายามคิดค้นยาใหม่ ๆ เพื่อลดโปรตีนในปัสสาวะ และจากการศึกษาพบว่าในกลุ่ม

endothelin receptor antagonist สามารถลดโปรตีนในปัสสาวะได้ในผู้ป่วยไตเรื้อรัง²⁻⁸

Endothelin และพยาธิวิทยาทางไต

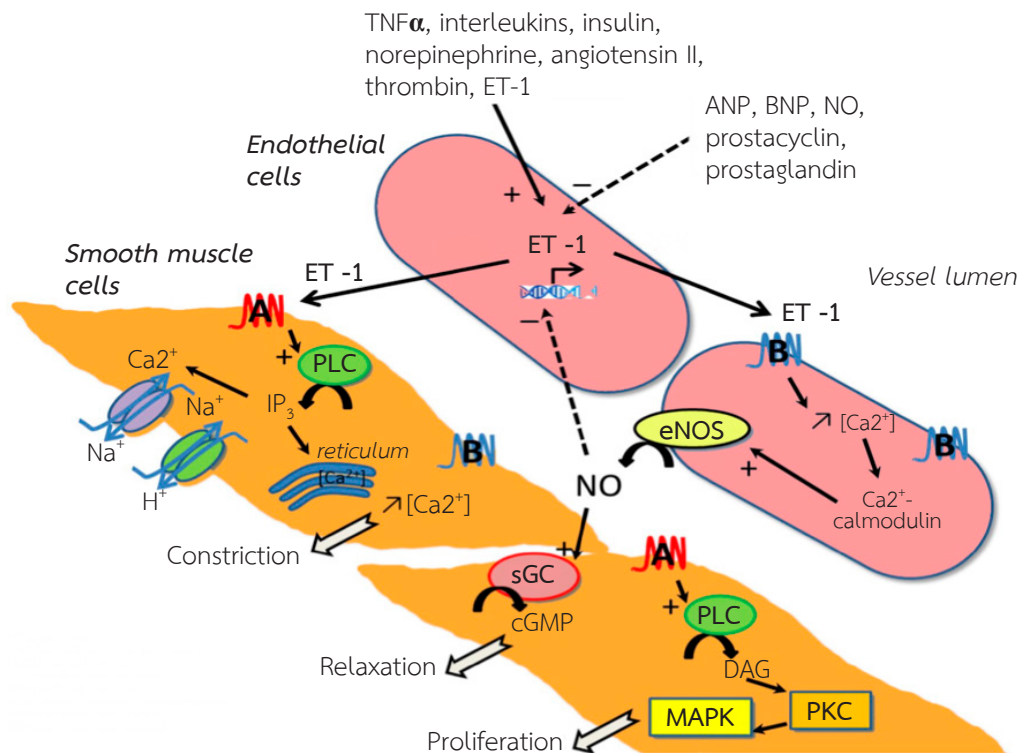
Endothelin ถูกค้นพบครั้งแรก ปี ค.ศ. 1988 โดย Yanagisawa และคณะ⁹ ประกอบด้วยหมู่อะมิโนแอซิดเปปไทด์ 21 ตัว และมี disulfide bond เชื่อมโครงสร้างของหมู่อะมิโนแอซิด มี 3 ชนิดคือ endothelin-1 (ET-1), endothelin-2 (ET-2), endothelin-3 (ET-3) ออกฤทธิ์โดยการจับกับ endothelin receptor ซึ่งมี 2 subtypes คือ endothelial receptor type A (ET_A) และ type B (ET_B) ควบคุมโดยยีนบนโครโมโซม 4q28 และ 13q22^{10, 11}

ET-1 เป็นสารที่มีฤทธิ์มากสุดในการกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด สร้างมาจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังสร้างจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ mesangial cell,

vascular endothelium, tubular epithelial cell ของหน่วยกรองไต เซลล์บุผนังหลอดเลือด แมคโครเฟจ เซลล์สร้างเส้นใย เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์สมอง และเซลล์ของตับอ่อน ส่วน ET-2 สร้างจากรังไข่ของผู้หญิง และเซลล์บุผนังลำไส้ และ ET-3 สร้างจากเซลล์สมอง เซลล์บุผนังท่อไต และเซลล์บุผนังลำไส้ ควบคุมโดย ET-1 ยีนบนโครโมโซม 6p23-24, ET-2 ยีนบนโครโมโซม 1p34 และ ET-3 ยีนบนโครโมโซม 20q13.2-13.3¹² ตัวกระตุ้นยีน ET-1 มีหลายชนิด ได้แก่ angiotensin II, transforming growth factor-beta (TGF- β), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 อะดรีนาลีน ภาวะเซลล์ขาดออกซิเจน และอินซูลิน ส่วนตัวยับยั้งยีน ET-1 ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ แอนติริย์เรติกเปปไทด์

prostaglandin E2 (PGE2), prostacyclin (PGI2) และภาวะเครียดทางกล ดังรูปที่ 1¹¹

ET-1 เป็น endothelin ที่พบมากที่สุดที่ไต โดยเริ่มต้นจาก ET-1 ยีนถอดรหัส endothelial-1 mRNA เป็นหมู่อะมิโนแอซิด 212-amino-acid precursor protein (prepro-ET-1) แล้วตัดแบ่งด้วย neutral endopeptidase เป็น active precursor (38-amino acid Pro-ET-1 หรือ big ET-1) และถูก metalloproteinase endothelin-converting-enzyme-1 (ECE-1) เปลี่ยนเป็น mature 21-amino acid endothelial-1 (ET-1) ซึ่งเป็นตัวที่ออกฤทธิ์จับกับ endothelin receptor¹⁰

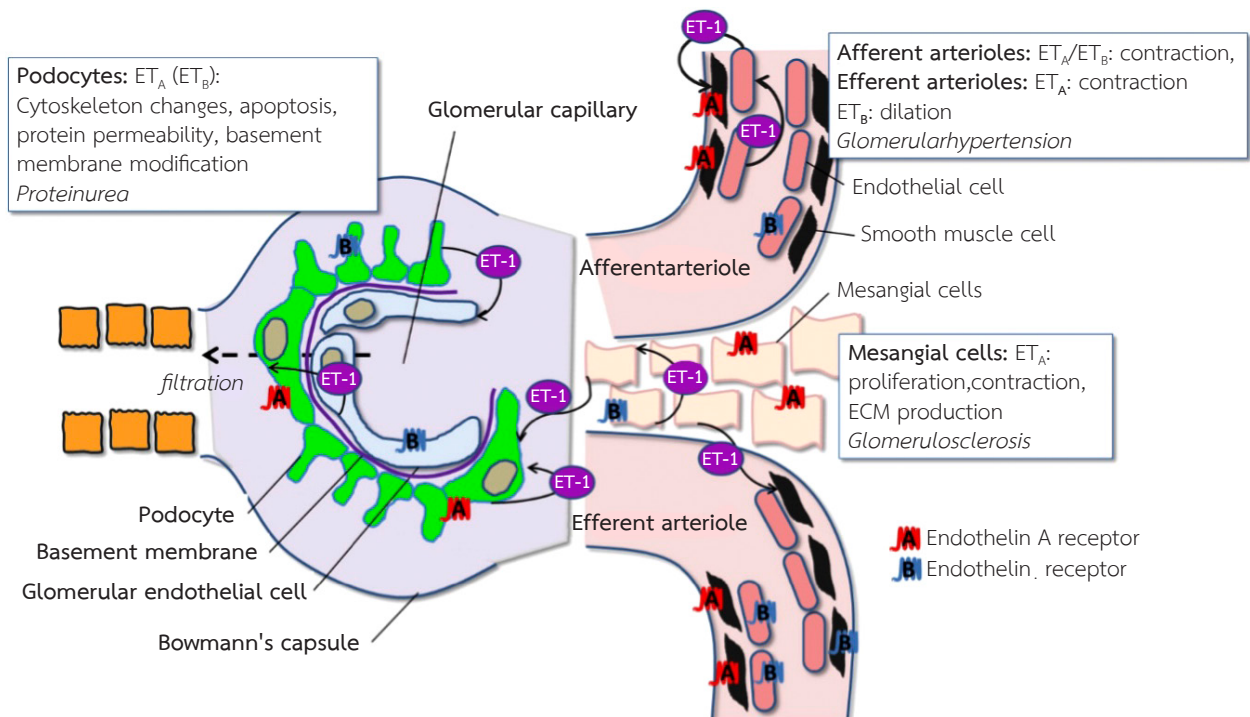


รูปที่ 1 Endothelin-1 และ endothelial receptor ในระบบหลอดเลือด

ตัวย่อ: NO, nitric oxide; eNOS, endothelial nitric oxide synthase; PLC, phospholipids C; sGC, soluble guanylyl cyclase; IP₃, inositoltriphosphate; cGMP, cyclic guanoside monophosphate; ANP, atrial natriuretic peptide; BNP, brain natriuretic peptide¹¹

ET_A จับกับ ET-1 และ ET-2 ได้ดีกว่า ET-3 อยู่บริเวณกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือด การเพิ่มจำนวนเซลล์ และ ET_B จับกับ endothelins ทั้ง 3 ชนิดเท่ากัน อยู่บริเวณเซลล์บุผนังหลอดเลือด กระตุ้นการขยายตัวของหลอดเลือด

เลือด ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ และยับยั้งการเกิดพังพืด ส่วนของไต endothelial receptor พบได้หลายตำแหน่งของไต แตกต่างกันตามแต่ละชนิดดังรูปที่ 2^{10, 11}

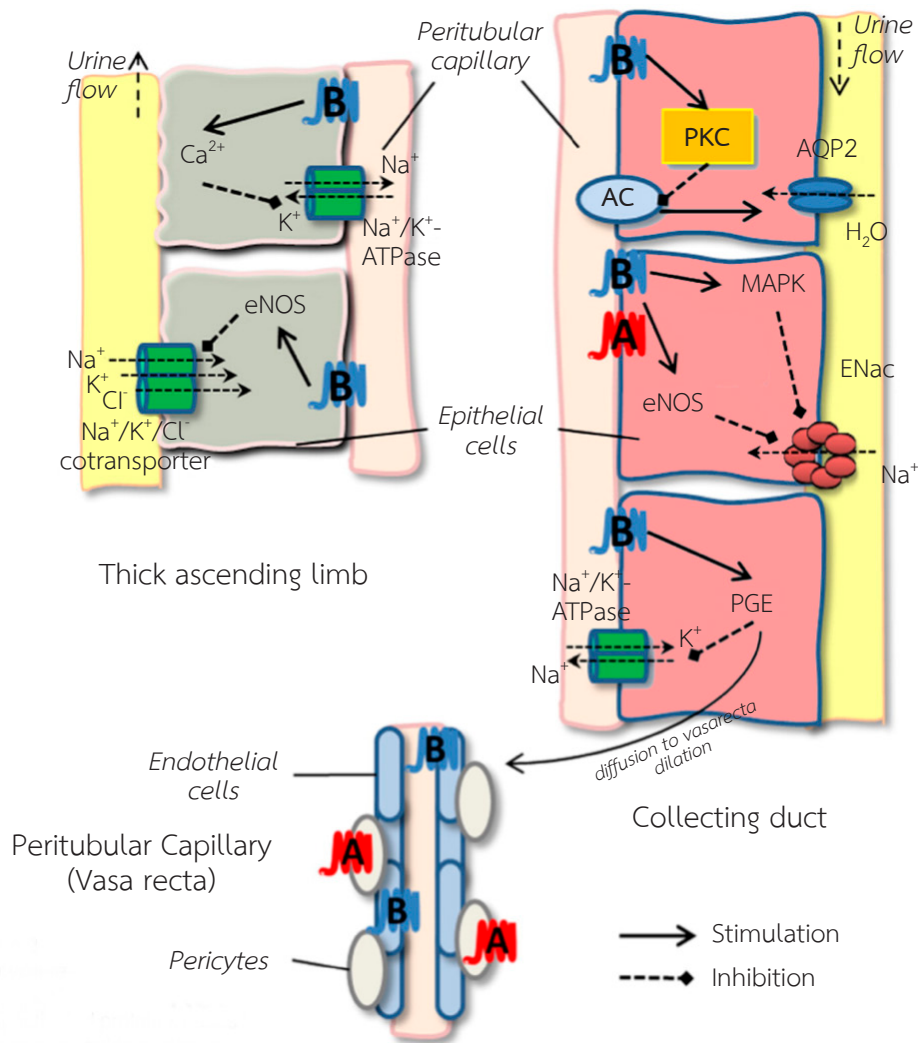


รูปที่ 2 Endothelin-1 และ endothelial receptor ในโกลเมอรูลัส¹¹

ET-1 มีผลต่อการควบคุมการขับโซเดียมและน้ำบริเวณท่อไต โดยเมื่อมีปริมาณน้ำและโซเดียมเพิ่มที่หน่วยกรองไต จะกระตุ้นการสร้าง ET-1 แล้วออกฤทธิ์ผ่าน ET_B ทำให้มีการสร้างไนตริกออกไซด์ และ prostaglandin E2 เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดยับยั้งการดูดกลับโซเดียมทางปัสสาวะ (natriuresis) และยับยั้งการดูดกลับของน้ำโดยกระตุ้นผ่าน ET_B ยับยั้ง epithelial sodium channel (ENaC) และ vasopressin V2 receptor ที่ท่อไตรวม ยับยั้ง Na-K-2Cl cotransporter (NKCC) ที่บริเวณส่วนหนาของท่อขาขึ้นของลูปของเฮนเล และยับยั้ง Na-K-ATPase และ sodium cotransporter ที่บริเวณท่อกรองไตส่วนต้น มีผลทำให้ความดันโลหิตลดลง ดังนั้น ET_B เป็นตัวควบคุมความดันโลหิตและการขับเกลือโซเดียมทางปัสสาวะและมีหน้าที่ในการควบคุมสมดุลกรด-ด่าง โดยยับยั้ง Na/H exchanger เพิ่มการขับไฮโดรเจนไอออนที่ท่อกรองไตส่วน

ต้นในภาวะที่เลือดเป็นกรด ดังรูปที่ 3^{10, 11}

ET-1 ควบคุมการไหลเวียนของเลือดที่หน่วยกรองไต โดยออกฤทธิ์ผ่าน ET_A ที่บริเวณเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของ afferent arteriole และเซลล์ pericytes ของหลอดเลือด vasa recta ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือด ลดการไหลเวียนโลหิตไปที่โกลเมอรูลัส ลดอัตราการกรองของไต และเพิ่มจำนวนเซลล์ mesangium โดยเซลล์ mesangium ผลิต interleukin-6, TGF- β , platelet-derived growth factor (PDGF) เพิ่มการสร้าง fibronectin, collagen IV เกิดการสะสมของสารเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ ส่งผลต่อการเกิดพังพืดในเนื้อไตและเกิดโรคไตเรื้อรังตามมา¹⁰ นอกจากนี้ยังเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ไตเกิดจากการเพิ่มของโมเลกุลยึดเกาะที่ผิวเซลล์ทำให้เกิดไตอักเสบ¹³



รูปที่ 3 Endothelin-1 และ endothelial receptor ในท่อไต¹¹

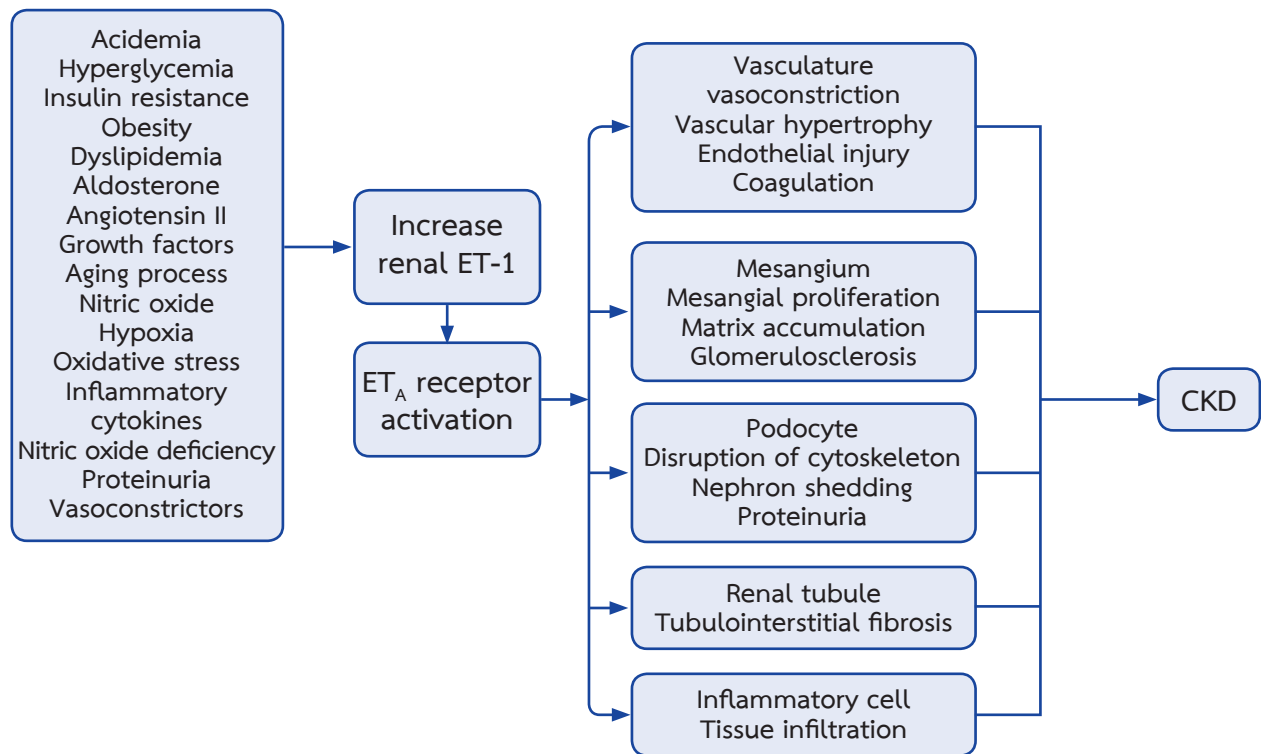
ตัวย่อ: AQP2, aquaporin 2; AC, adenylate cyclase; PKC, protein kinase C; MAPK, mitogen activated protein kinases; eNOS, endothelial nitric oxide synthase; ENaC, sodium channel; PGE, prostaglandin

การเกิดโปรตีนรั่วทางปัสสาวะเป็นอาการสำคัญในการเกิดโรคไต เกิดจากการบาดเจ็บและการบางตัวของ podocyte โดยการกระตุ้นของ ET-1 ผ่าน ET_A ของ podocyte เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง actin และ nephrin ทำให้ slit diaphragm แยกจากกัน เสียคุณสมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่าน จึงมีโปรตีนรั่วออกมาในปัสสาวะ เป็นขบวนการสำคัญในการเกิด glomerulosclerosis^{10, 14}

Endothelin ในโรคไต

จากผลการศึกษาในสัตว์ทดลองการเพิ่มขึ้นของ ET-1 มีผลต่อการดำเนินโรคของโรคไต โดยเฉพาะการเกิดพังพืดที่ไต ซึ่ง

ผ่านการกระตุ้น ET_A บนเซลล์ fibroblast สร้าง matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9 เกิดการสะสมของสารเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ การเพิ่มขึ้นของเซลล์ mesangium และกระตุ้นขบวนการ epithelial mesenchymal transition (EMT) ที่เซลล์บุผนังท่อกรองไตเปลี่ยนแปลงไปเป็น mesenchymal cells และหลังสารมากระตุ้น fibroblast ทำให้เกิดพังพืดในเนื้อไตเพิ่มมากขึ้น ปัจจัยที่การกระตุ้นการสร้าง ET-1 พบได้ในหลายโรคที่เป็นสาเหตุของโรคไต เช่น ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะดื้อต่ออินซูลิน ภาวะอ้วน ไขมันในเลือดสูง การเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระ angiotensin II และภาวะเลือดเป็นกรดจากโรคไตเอง ดังรูปที่ 4¹⁵



รูปที่ 4 Endothelin และพยาธิสภาพการเกิดโรคไตเรื้อรัง¹⁵

ตัวอย่าง endothelin ในโรคไตจากภาวะต่าง ๆ (ตารางที่ 1)

1. โรคไตจากโรคเบาหวาน ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงกระตุ้นการสร้าง ET-1 เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ podocyte, การตายของ podocyte เกิดการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ และจากการศึกษาพบว่า ยา ETA antagonist (avosentan, atrasentan) สามารถชะลอการเสื่อมของไตในผู้ป่วยไตเรื้อรังจากโรคเบาหวานได้ โดยการลดโปรตีนในปัสสาวะ^{3-6, 8, 16}

2. โรคไตเรื้อรังจากภาวะความดันโลหิตสูง โดยภาวะความดันโลหิตสูงสัมพันธ์กับ renin angiotensin aldosterone system (RAAS) โดย angiotensin II เพิ่มการสร้าง ET-1 มีผลต่อการไหลเวียนโลหิตไปที่ไตลดลงจากการหดตัวของหลอดเลือด afferent, efferent และหลอดเลือด vasa recta ทำให้เกิดการเพิ่มแรงดันในโกลเมอรูลัสสูงขึ้น จากการศึกษาพบว่า ET-1 กระตุ้น ET_A ทำให้การดำเนินโรคไตเรื้อรังเสื่อมเร็วขึ้น ยาที่ใช้ในการชะลอความเสื่อมของไตในผู้ป่วยกลุ่มนี้ คือ RAAS blockade ซึ่งช่วยลดโปรตีนรั่วทางปัสสาวะ ลดความดันโลหิต ชะลอการเกิดพังพืดที่ไต และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า การใช้ avosentan ร่วมกับ valsartan เทียบกับการใช้ avosentan อย่างเดียว พบว่าลดการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ และลดอัตราการเสียชีวิตได้มากกว่า¹⁷

3. ไตอักเสบชนิด focal segmental glomerulosclerosis มีโปรตีนรั่วทางปัสสาวะและอาการบวม สาเหตุจากการเปลี่ยนแปลง

โครงสร้าง actin ของ podocyte การแยกของ slit diaphragm การตายและการหลุดลอกของ podocyte และตรวจพบ ET-1 ในปัสสาวะ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ET-1 มีผลต่อการเกิดโรค¹⁴ และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า darusentan (ETA antagonist) ลดความดันโลหิตในผู้ป่วย focal segmental glomerulosclerosis ลดโปรตีนรั่วในปัสสาวะ podocyte ทำงานได้ปกติไม่มีการลดจำนวนลง¹⁸

4. โรคไตอักเสบจากภูมิคุ้มกัน IgA จะมีการสร้าง ET-1 จากเซลล์ mesangium เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดหลอดเลือดที่ไตหดตัว มีโปรตีนในปัสสาวะ การให้ ACEI หรือ ARB สามารถลดโปรตีนในปัสสาวะได้ และลดการสร้าง ET-1¹⁹

การศึกษาทางคลินิกของ endothelin receptor antagonists

โรคไตเรื้อรัง เช่น โรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ไตอักเสบ โรคไตเป็นถุงน้ำ และที่ไม่ทราบสาเหตุของโรคไตเรื้อรัง มีการสร้าง ET-1 ในเลือดเพิ่มขึ้นจากการอักเสบและการบาดเจ็บของหลอดเลือด การทำงานของไตลดลง ภาวะเลือดเป็นกรด การมี ET-1 เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับการมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะและความรุนแรงของโรคไตเรื้อรัง ดังนั้นการให้ endothelin receptor antagonists ได้ประโยชน์ทางคลินิกในการชะลอความเสื่อมของไต และลดการเกิดพังพืดของไต

ตารางที่ 1 การศึกษาทางคลินิกของ endothelin receptor antagonist ในโรคไตเรื้อรัง

disease	Study type	Intervention	Size /Ages	Study status	Outcomes/Conclusions
Hypertensive nephropathy	phase I RCT	BQ123 (ET _A) BQ788 (ET _B)	N=16 18-70 years	Completed	BQ123 increase renal blood flow BQ123 response seen in CKD, but not in healthy patients
Non diabetic CKD	phase I RCT	BQ123 (ET _A) Nifedipine	N=22 18-70 years	Completed	BQ123 reduced proteinuria and pulse wave velocity more than nifedipine with independent of blood pressure effects
Non diabetic CKD	phase I RCT	TAK-044 (ET _A /ET _B)	N=7	Completed	Increase renal blood flow, reduce blood pressure and increase cardiac index
Non diabetic CKD	phase II RCT	Sitaxsentan (ET _A) Nifedipine	N=27 18-70 years	Completed	Sitaxsentan reduce proteinuria, blood pressure Nifedipine did not reduce proteinuria in CKD stages 1-4
Diabetic nephropathy	phase II	Avosentan (ET _A) 5,10,25,50 mg/d Placebo	N=286 18-75 years	Completed	Avosentan reduce albuminuria 20-30% from 5-50 mg/d Fluid retention dose-dependent range from 12-32% of patients
Diabetic nephropathy	phase III RCT (ASCEND)	Avosentan (ET _A) 25, 50 mg/d Placebo	N=1392 50-70 years	Terminated	Avosentan reduce in albuminuria 44-49% after 4 months Trial terminated owing to adverse events related to fluid retention
Diabetic nephropathy	phase IIa	Atrasentan (ET _A) 0.25, 0.75, 1.75 mg/d Placebo	N=89	Completed	Atrasentan reduce proteinuria 35-40% in two high doses edema dose-dependent (14-46%) and generally mild
Diabetic nephropathy	phase IIb (RADAR)	Atrasentan (ET _A) 0.75, 1.25 mg/d Placebo	N=211		Atrasentan reduced proteinuria 35-39% with received MTLN ACEI or ARB
Diabetic nephropathy	phase III RCT (SONAR)	Atrasentan (ET _A) 0.75 mg/d Placebo	N=5117 18-85 years	Terminated	Atrasentan reduced the risks renal event 8% in selected patients with received MTLN ACEI or ARB Study was terminated due to lack of promising evidence, not due to safety concern
Diabetic nephropathy	phase II	Daglutril (ECE inhibitor) Placebo	N=45	Completed	No change in proteinuria after 8 weeks All taking losartan 100 mg/d
Focal segmental glomerulosclerosis	phase II RCT (DUET)	Sparsentan (ET _A) 200,400, 800 mg/d Irbesartan	N=109 8-75 years	Completed	Sparsentan was significantly reduce proteinuria after 8 weeks, well tolerated and safe compare to irbesartan
Focal segmental glomerulosclerosis	phase III RCT (DUPLEX)	Sparsentan (ET _A) 800 mg/d Irbesartan	N=300 18-75 years	Ongoing	Evaluate long term antiproteinuric effect and renoprotective of sparsentan
IgA nephropathy	phase III RCT (PROTECT)	Sparsentan (ET _A) 400 mg/d Irbesartan	N=280	Ongoing	Evaluate long term antiproteinuric effect and renoprotective of sparsentan

การศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง

การศึกษาของ Goddard และคณะ มีการใช้ ET_A-selective blocker (BQ123) และ ET_B-selective blocker (BQ788) ฉีดเข้าหลอดเลือดในผู้ป่วย 8 ราย ที่มีโรคไตเรื้อรังจากความดันโลหิตสูง และอีก 8 ราย เป็นคนปกติที่ไม่มีโรคไต พบว่า BQ123 ลดความดันโลหิต และเพิ่มเลือดไหลเวียนไปที่ไตในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากความดันโลหิตสูง ขณะที่การใช้ BQ123 ร่วมกับ BQ788 กลับไม่ได้ผลดังกล่าว²⁰ ดังนั้นสรุปได้ว่าในโรคไตเรื้อรังจะมีการกระตุ้น ET_A receptor เพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดที่ไต และความดันโลหิตสูง ส่วนการกระตุ้น ET_B receptor จะช่วยชะลอความเสื่อมของไต การศึกษาของ Dhaun และคณะ มีการใช้ BQ123 เทียบกับ nifedipine ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ไม่มีโรคเบาหวาน 22 ราย ที่ได้ยา RAS blockade พบว่า BQ123 ลดโปรตีนรั่วในปัสสาวะ และลดภาวะหลอดเลือดแข็งตัวได้ดีกว่า nifedipine แต่การลดความดันโลหิตไม่แตกต่างกัน² ดังนั้นสรุปได้ว่า ET_A-selective blocker ช่วยชะลอความเสื่อมของไตได้ดี เมื่อใช้ร่วมกับ RAS blockade และ BQ788 ไม่มีประโยชน์ในผู้ป่วยไตเรื้อรัง เพราะทำให้มีการหดตัวของหลอดเลือดไตลดเลือดไหลเวียนไปที่ไต

การศึกษาของ Dhaun และคณะ ศึกษาการใช้ยา TAK-044 โดยสามารถในการจับ ET_A มากกว่า ET_B 18 เท่า ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง 7 ราย ที่มีสาเหตุจากโรคถุงน้ำในไต IgA nephropathy ไตอักเสบไตเรื้อรังจากการอุดตันทางเดินปัสสาวะ ไตเรื้อรังจากความดันโลหิตสูง พบว่าเพิ่มเลือดไหลเวียนไปที่ไต และลดความดันโลหิตจากการคลายตัวของหลอดเลือด แต่ไม่มีผลต่ออัตราการกรองของไต²¹ ดังนั้นสรุปได้ว่า ET_A-selective blocker เพิ่มเลือดไหลเวียนไปที่ไต

การศึกษาของ Dhaun และคณะ ทำการศึกษาการใช้ sitaxsentan (ET_A-selective blocker) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะที่ 1-4 ที่ไม่มีโรคเบาหวาน จำนวน 27 ราย ร่วมกับการได้ยา RAS blockade เทียบกับกลุ่มที่ได้ nifedipine พบว่า sitaxsentan ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ 0.73 กรัม/วัน ส่วน nifedipine ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ 0.09 กรัม/วัน ที่ 6 สัปดาห์หลังได้รับยา นอกจากนี้ sitaxsentan ยังลดความดันโลหิตในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังเฉลี่ย 4 มม.ปรอท จึงน่าจะเป็นยาทางเลือกสำหรับการรักษาในความดันโลหิตในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง²² แต่มีรายงานผู้ป่วยที่ได้รับยา sitaxsentan เกิดอาการตับวายเฉียบพลัน ปัจจุบันยาจึงถูกถอนออกจากตลาด ดังนั้นสรุปได้ว่า ET_A-selective blocker สามารถชะลอความเสื่อมของโรคไตได้ดีเมื่อใช้ร่วมกับยาในกลุ่ม RAS blockade

DUET trial เป็นการศึกษาผลของ sparsentan (RE-021: ET_A-selective blocker และ ARB) ขนาดยา 200, 400, 800 มก./วัน ในผู้ป่วยไตอักเสบชนิด focal segmental glomerulosclerosis 73 ราย เปรียบเทียบกับ irbesartan 300 มก./วัน ในผู้ป่วยไตอักเสบชนิด focal segmental glomerulosclerosis 36 ราย อายุ

8-75 ปี อัตราการกรองของไตมากกว่า 30 มล./นาที/1.73 ตารางเมตร โปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 1000 มก./วัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ลดโปรตีนในปัสสาวะร้อยละ 44.8 ในกลุ่มที่ได้ sparsentan และร้อยละ 18.5 ในกลุ่มที่ได้ irbesartan โดยเฉพาะขนาดยา sparsentan 400, 800 มก./วัน ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ดี และไตอักเสบชนิด focal segmental glomerulosclerosis เข้าสู่ภาวะโรคสงบได้ถึงร้อยละ 28 ในกลุ่มที่ได้ sparsentan ร้อยละ 9 ในกลุ่มที่ได้ irbesartan ยา sparsentan ลดความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัวได้มากกว่า irbesartan 7.2 มม.ปรอท ลดความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวได้มากกว่า irbesartan 5.6 มม.ปรอท อาการไม่พึงประสงค์จากยาคือภาวะความดันโลหิตต่ำ และอาการบวม แต่การศึกษานี้ไม่สามารถบอกถึงผลของ sparsentan ในแต่ละขนาดยาที่แตกต่างกันได้ เพราะจำนวนผู้ป่วยน้อย⁷ จากการศึกษา การให้ยา endothelial receptor antagonist ร่วมกับ ARB ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ดีกว่าการให้ ARB ตัวเดียวในผู้ป่วย focal segmental glomerulosclerosis การได้ยาที่ออกฤทธิ์คนละตำแหน่งสามารถเสริมฤทธิ์กันทำให้ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ดี ชะลอความเสื่อมของโรคไตเรื้อรัง

จากการศึกษา DUET trial ได้มีการศึกษาตามมาคือ DUPLEX trial เป็นการศึกษายา sparsentan ขนาดยา 800 มก./วัน ในผู้ป่วย focal segmental glomerulosclerosis เทียบกับ irbesartan เพื่อศึกษาผลของการลดโปรตีนในปัสสาวะ และผลต่ออัตราการกรองของไตในระยะยาว โดยศึกษาในคนอายุ 18-75 ปี จำนวน 300 ราย ที่มีโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 1500 มก./วัน และอัตราการกรองของไตมากกว่า 30 มล./นาที/1.73 ตารางเมตร อยู่ระหว่างการศึกษา²³

จากการศึกษาข้างต้น^{2,21,22} endothelial receptor antagonist ลดโปรตีนในปัสสาวะเมื่อใช้ร่วมกับ RAS blockade และในโรคไตอักเสบจากภูมิคุ้มกัน IgA จะมีการสร้าง ET-1 เพิ่มขึ้น¹⁹ ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาที่ชื่อว่า Protect trial โดยศึกษา sparsentan 400 มก./วัน เทียบกับ irbesartan 300 มก./วัน ในผู้ป่วยโรคไตอักเสบจากภูมิคุ้มกัน IgA ที่ไม่เคยได้ยากดภูมิคุ้มกันมาก่อน โปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 1000 มก./วัน และอัตราการกรองของไตมากกว่า 30 มล./นาที/1.73 ตารางเมตร เพื่อเปรียบเทียบการลดโปรตีนในปัสสาวะและอัตราการกรองของไต ระยะเวลาการศึกษา 2 ปี เพื่อดูประสิทธิภาพในการชะลอการดำเนินโรคของโรคไตเรื้อรัง อยู่ระหว่างการศึกษา²⁴

การศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากเบาหวาน

การศึกษาของ Wenzel และคณะ ได้ทำการศึกษา avosentan (ET_A-selective blocker) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน จำนวน 286 ราย ร่วมกับการได้รับยา RAS blockade และมีอัตรา

การกรองของไต 80 มล./นาที โปรตีนในปัสสาวะ 1500 มก./วัน ขนาดยา avosentan 5, 10, 25, และ 50 มก./วัน ติดตามหลังได้ยาไป 12 สัปดาห์ ลดโปรตีนรั่วทางปัสสาวะลงร้อยละ 20.9, 16.3, 25 และ 29.9 ตามลำดับ แต่กลุ่มที่ไม่ได้ยา avosentan มีการเพิ่มของโปรตีนในปัสสาวะร้อยละ 35.5 ผลข้างเคียงของยา avosentan คือการคั่งคั่งของน้ำในร่างกาย พบร้อยละ 11.9, 21.1, 15.0 และ 32.1 ตามลำดับ ดังนั้นขนาดยา avosentan ขนาดสูงสามารถลดโปรตีนในปัสสาวะได้ดี แต่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดการคั่งคั่งของน้ำในร่างกาย³

หลังจากนั้นได้มีการศึกษา ยา avosentan ในกลุ่มผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน คือ ASCEND trial ศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 1392 ราย โปรตีนในปัสสาวะเฉลี่ย 1500 มก./วัน อัตราการกรองของไตเฉลี่ย 33 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร ร่วมกับการได้ยา RAS blockade ขนาดยา avosentan 25 และ 50 มก./วัน พบว่ายา avosentan ลดโปรตีนในปัสสาวะหลังการติดตามไป 4 เดือน ร้อยละ 44.3, 49.3 ส่วนในกลุ่มที่ไม่ได้ avosentan ลดโปรตีนในปัสสาวะร้อยละ 9.7 แต่การศึกษาได้ยุติก่อนกำหนด เพราะมีอาการไม่พึงประสงค์คือ ภาวะหัวใจวายและน้ำท่วมปอดในกลุ่มที่ได้ avosentan พบมากกว่า 3 เท่าเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ avosentan⁴ จึงสรุปได้ว่าไม่ควรใช้ avosentan ขนาดสูงในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน เพราะจะมีการคั่งคั่งของน้ำในร่างกาย

การศึกษาของ Parvanova และคณะ ทำการศึกษา ยา daglutril ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้ง endothelin-converting enzyme (ECE) และ neutral endopeptidase ลดการสร้าง ET-1 ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในประเทศอิตาลี 45 ราย โปรตีนในปัสสาวะ 20-999 ไมโครกรัม/นาที ร่วมกับการได้ยา losartan 100 มก./วัน ความดันโลหิตน้อยกว่า 140/90 มม.ปรอท ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ขนาดยา daglutril 300 มก./วัน โดยกลุ่มที่ได้ daglutril แล้วเปลี่ยนเป็นไม่ได้ยา daglutril 22 ราย อัตราการกรองของไตเฉลี่ย 90 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้ยา daglutril แล้วเปลี่ยนเป็น daglutril 23 ราย อัตราการกรองของไตเฉลี่ย 72 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร พบว่า daglutril ไม่ลดโปรตีนในปัสสาวะ แต่ลดความดันโลหิตขนาดหัวใจห้องล่างบีบตัว 5.4 มม.ปรอท²⁵ ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่า ECE blockade รักษาความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยไตเรื้อรัง แต่ไม่ลดโปรตีนในปัสสาวะจึงไม่ผลในการชะลอการดำเนินของโรคไตเรื้อรัง

จากการศึกษาของ Kohan และคณะ โดยศึกษา ยา atrasentan (ET_A-selective blocker) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน 89 ราย โปรตีนในปัสสาวะ 350-515 มก./กรัม อัตราการกรองของไต 48-61 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร ร่วมกับการได้ยา RAS blockade ขนาดยา atrasentan 0.25, 0.75, 1.75 มก./วัน ติดตามเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ลดโปรตีนในปัสสาวะร้อยละ 21, 42, 35

ที่ขนาดยา 0.25, 0.75, 1.75 มก./วัน ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ร้อยละ 11 ดังนั้นขนาดยา atrasentan 0.75, 1.75 มก./วัน ลดโปรตีนในปัสสาวะได้ดีเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan อาการไม่พึงประสงค์จากยา คือ การบวมพบตั้งแต่อาการบวมน้อยจนถึงปานกลางซึ่งสัมพันธ์กับขนาดยา ร้อยละ 9, 14, 18, 46 ที่ขนาดยา 0.25, 0.50, 1.75 มก./วัน ตามลำดับ⁵

จากการศึกษาต่อมา RADAR trial เป็นการศึกษาของยา atrasentan ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวาน 211 ราย โปรตีนในปัสสาวะ 300-3500 มก./วัน อัตราการกรองของไต 30-75 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร และได้รับยา RAS blockade ขนาดยา atrasentan 0.75 มก./วัน 78 ราย, 1.25 มก./วัน 83 ราย และไม่ได้ยา atrasentan 50 ราย ติดตาม 12 สัปดาห์ พบว่าโปรตีนในปัสสาวะลดลงร้อยละ 35 และร้อยละ 38 ที่ขนาดยา 0.75 มก./วัน และ 1.25 มก./วัน ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan โปรตีนในปัสสาวะไม่ลดลง atrasentan ลดความดันโลหิตลงโดยเฉลี่ย 5 มม.ปรอททั้งสองขนาดยา นอกจากนี้หลังหยุดยา atrasentan 30 วัน ทั้งความดันโลหิตและโปรตีนในปัสสาวะจะกลับมาในระดับเดิม อาการไม่พึงประสงค์ทำให้เกิดการบวมน้อยพบร้อยละ 35, 42, 42 ที่ขนาดยา 0.75 มก./วัน 1.25 มก./วัน และกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้คัดเลือกผู้ป่วยที่มีประวัติภาวะหัวใจวาย โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ผู้ป่วยรับประทานยาขับปัสสาวะขนาดสูงออกจากการศึกษา นอกจากนี้ยา atrasentan ทั้งสองขนาดยังมีผลลดโคเลสเตอรอล 18 มก./ดล. LDL 15 มก./ดล. ส่วนไตรกลีเซอไรด์ลดลง 30 มก./ดล. ในขนาดยา 0.75 มก./วัน และลดลง 48 มก./ดล. ในขนาดยา 1.25 มก./วัน โดยไม่ได้ยาลดไขมัน ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ยังไม่ทราบชัดเจน⁶

สรุปในการศึกษานี้การใช้ ET_A-selective blocker ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวานที่ได้รับยา RAS blockade ลดโปรตีนในปัสสาวะเพื่อชะลอความเสี่ยงของโรคไตเรื้อรัง ลดความดันโลหิตและลดไขมันในเลือด แต่ควรพิจารณาใช้ยาในผู้ป่วยที่ไม่มีความเสี่ยงภาวะหัวใจวาย

SONAR trial เป็นการศึกษาของยา atrasentan 0.75 มก./วัน เทียบกับการไม่ได้ยา atrasentan ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับ RAS blockade อย่างน้อย 4 สัปดาห์ ก่อนได้รับยา atrasentan อายุ 18-85 ปี อัตราการกรองของไต 25-75 มล./นาที/ 1.73 ตารางเมตร โปรตีนในปัสสาวะ 300-5000 มก./วัน ความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว 110-180 มม.ปรอท โดยเลือกเฉพาะผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยา atrasentan คือ สามารถลดโปรตีนในปัสสาวะได้ร้อยละ 30 และไม่มีอาการของภาวะคั่งคั่งของเกลือโซเดียม หลังได้รับยา atrasentan เป็นเวลา 6 สัปดาห์

จำนวน 2648 ราย เพื่อศึกษาผลของยาต่อการเพิ่มของระดับครีเอตินินในเลือด หรือการดำเนินโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายหลังติดตามไปเฉลี่ย 2.2 ปี โดยกลุ่มที่ได้ยา atrasentan เกิดร้อยละ 6 ส่วนในกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan เกิดร้อยละ 7.9 การลดลงของอัตราการกรองของไตร้อยละ 50 พบได้ 0.73 เท่าในกลุ่มที่ได้ยา atrasentan เทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ยา atrasentan การศึกษาที่ดีก่อนกำหนดเพราะการเพิ่มขึ้นของค่าครีเอตินินในเลือด และการดำเนินโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายเกิดน้อยกว่าที่คาด อาการไม่พึงประสงค์ที่พบของ atrasentan คือภาวะหัวใจล้มเหลวพบร้อยละ 3.6 ส่วนในกลุ่มที่ไม่ได้ atrasentan พบร้อยละ 2.6 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการศึกษานี้สรุปได้ว่า atrasentan จะลดการดำเนินของโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เมื่อใช้ร่วมกับยา RAS blockade และพิจารณาใช้ในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยา atrasentan ที่ไม่มีความเสี่ยงภาวะหัวใจวาย หรือพิจารณาให้ร่วมกับยาขับปัสสาวะ

สรุป

Endothelins เป็นสาเหตุของการดำเนินโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย โดยการกระตุ้นผ่าน ET_A ทำให้มีการหดตัวของหลอดเลือดไต ลดอัตราการกรองของไต และมีเซลล์การอักเสบที่เนื้อไต ทำให้เกิดการสะสมของสารเมทริกซ์ภายนอก เกิดเป็นพังพืดที่ไตตามมา และในทางตรงกันข้าม ET_B จะทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด และลดเซลล์การอักเสบ ลดการเกิดพังพืดที่ไต ดังนั้นจึงมีการศึกษา ยา endothelin A-selective antagonist เพื่อชะลอความเสื่อมของไต โดยให้ร่วมกับยากลุ่ม RAAS blockade ทั้งในกลุ่มที่เป็นโรคไตเรื้อรังจากโรคเบาหวานและจากสาเหตุอื่นๆ แต่ยาในกลุ่มนี้มีอาการไม่พึงประสงค์คือการคั่งคั่งของน้ำในร่างกาย ดังนั้น ควรหลีกเลี่ยงการใช้ในผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อภาวะหัวใจล้มเหลว

เอกสารอ้างอิง

1. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease kidney disease: improving global outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2013;3:1-150.
2. Dhaun N, MacIntyre IM, Melville V, Lilitkarntakul P, Johnston NR, Goddard J, et al. Blood pressure-independent reduction in proteinuria and arterial stiffness after acute endothelin-A receptor antagonism in chronic kidney disease. *Hypertension.* 2009;54(1):113-9.
3. Wenzel RR, Littke T, Kuranoff S, Jürgens C, Bruck H, Ritz E, et al. Avosentan reduces albumin excretion in diabetics with macroalbuminuria. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(3):655-64.
4. Mann JFE, Green D, Jamerson K, Ruilope LM, Kuranoff SJ, Littke T, et al. Avosentan for overt diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21(3):527-35.
5. Kohan DE, Pritchett Y, Molitch M, Wen S, Garimella T, Audhya P, et al. Addition of atrasentan to renin-angiotensin system blockade reduces albuminuria in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(4):763-72.
6. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, Brennan JJ, Tang H, Houser M, et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(5):1083-93.
7. Trachtman H, Nelson P, Adler S, Campbell KN, Chaudhuri A, Derebail VK, et al. DUET: A phase 2 study evaluating the efficacy and safety of sparsentan in patients with FSGS. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29(11):2745-54.
8. Hiddo J L Heerspink H-HP, Dennis L Andress, George Bakris, Ricardo Correa-Rotter, Fan-Fan Hou, et al. 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):1937-47.
9. Yanagisawa M KH, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332:411-5.
10. Kohan DE, Rossi NF, Inscho EW, Pollock DM. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin. *Physiological Reviews.* 2011;91(1):1-77.
11. Vignon-Zellweger N, Heiden S, Miyauchi T, Emoto N. Endothelin and endothelin receptors in the renal and cardiovascular systems. *Life Sciences.* 2012;91(13-14):490-500.
12. Arinami T IM, Inoue A, Yanagisawa M, Masaki T, Yoshida MC, Hamaguchi H. Chromosomal assignments of the human endothelin family genes: the endothelin-1 gene(EDN1) to 6p23-p24, the

- endothelin-2 gene(EDN2) to 1p34, and the endothelin-3 gene(EDN3) to 20q13.2-q13.3. *Am J Hum Genet.* 1991;48:990–6.
13. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists. *Circulation.* 2000;102(19):2434-40.
 14. Barton M, Tharaux PL. Endothelin and the podocyte. *Clin Kidney J.* 2012; 5(1):17-27.
 15. Kohan DE, Barton M. Endothelin and endothelin antagonists in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014;86(5):896-904.
 16. Saleh MA, Pollock JS, Pollock DM. Distinct actions of endothelin A-selective versus combined endothelin A/B receptor antagonists in early diabetic kidney disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011; 338(1):263-70.
 17. Baltatu OC, Zaugg CE, Schumacher C, Louie P, Campos LA, Bader M. Avasentan is protective in hypertensive nephropathy at doses not causing fluid retention. *Pharmacological Research.* 2014;80:9-13.
 18. Ortmann J, Amann K, Brandes RP, Kretzler M, Munter K, Parekh N, et al. Role of podocytes for reversal of glomerulosclerosis and proteinuria in the aging kidney after endothelin inhibition. *Hypertension.* 2004;44(6):974-81.
 19. Zanatta CM, Veronese FV, Loreto MdS, Sortica DA, Carpio VN, Eldeweiss MIA, et al. Endothelin-1 and endothelin A receptor immunoreactivity is increased in patients with diabetic nephropathy. *Renal Failure.* 2012;34(3):308-15.
 20. Goddard J, Johnston NR, Hand MF, Cumming AD, Rabelink TJ, Rankin AJ, et al. Endothelin-A receptor antagonism reduces blood pressure and increases renal blood flow in hypertensive patients with chronic renal failure. *Circulation.* 2004;109(9):1186-93.
 21. Dhaun N, Ferro CJ, Davenport AP, Haynes WG, Goddard J, Webb DJ. Haemodynamic and renal effects of endothelin receptor antagonism in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(11):3228-34.
 22. Dhaun N, MacIntyre IM, Kerr D, Melville V, Johnston NR, Haughie S, et al. Selective endothelin-A receptor antagonism reduces proteinuria, blood pressure, and arterial stiffness in chronic proteinuric kidney disease. *Hypertension.* 2011;57(4):772-9.
 23. Komers R, Diva U, Inrig JK, Loewen A, Trachtman H, Rote WE. Study design of the phase 3 sparsentan versus irbesartan (DUPLEX) study in patients with focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int Reports.* 2020;5(4):494-502.
 24. Barratt J, Rovin B, Diva U, Mercer A, Komers R. Implementing the kidney health initiative surrogate efficacy endpoint in patients with IgA nephropathy (the PROTECT Trial). *Kidney Int Reports.* 2019;4(11):1633-7.
 25. Parvanova A, van der Meer IM, Iliev I, Perna A, Gaspari F, Trevisan R, et al. Effect on blood pressure of combined inhibition of endothelin-converting enzyme and neutral endopeptidase with daglutril in patients with type 2 diabetes who have albuminuria: a randomised, crossover, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology.* 2013;1(1):19-27.