

Puromycin Aminonucleoside 투여로 초래된 백서신증에 α -tocopherol이 미치는 영향

영남대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실
서형호, 정태성, 이은실, 신순문, 박용훈, 김용진

< 한 글 요약 >

목 적 : 사람의 미세변화 신증후군과 유사한 신증을 일으키는 것으로 알려진 puromycin aminonucleoside (PAN)의 1회 투여로 발생하는 신세포의 변화는 여러 기전이 작용하는 것으로 알려져 있으며, 최근에는 oxygen free radical이 사구체 손상의 중요한 한 가지 원인이라고 한다. 백서에 PAN을 투여하여 신증을 발생시킨 후, α -tocopherol을 투여하였을 때 PAN 신증에 미치는 영향에 대해 연구하고자 한다.

방 법 : 건강한 수컷 Sprague-Dawley 흰 쥐를 3군으로 나누어, I군은 생리 식염수를 1회 투여한 대조군 (N=6), II군은 PAN 1회 단독 투여군 (N=8), III군은 PAN 투여 후 α -tocopherol을 투여한 군 (N=7)으로 하였다. PAN 투여 직전과 투여 후 5일, 11일, 18일에 24시간 뇨의 protein, creatinine을 측정하였고, 18일째에는 혈청 protein, albumin, cholesterol도 함께 측정하였다. 또한 Oxygen free radical에 의한 신장 조직 손상을 평가하기 위해 신장 피질 미세균질액의 lipid peroxide와 reduced glutathione을 측정하였다.

결 과 : PAN 투여 5일 후 24시간 뇨 protein/creatinine 비는 II군과 III군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($P<0.01$), 그러나 18일째에는 α -tocopherol을 투여한 III군이 PAN을 단독 투여한 II군에 비해 유의하게 단백뇨가 적었다 ($P<0.05$). 신장 피질의 lipid peroxide과 reduced glutathione은 III군에 비해 II군에서 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 18일째의 신조직의 형태학적 변화는 PAN 단독으로 투여한 II군에서는 사구체 상피세포의 죽돌기가 심하게 융합되어 있으나, α -tocopherol을 투여한 III군에서는 죽돌기가 잘 보존되고 있었다.

결 론 : PAN 투여로 초래된 백서 신증에서 α -tocopherol의 투여는 lipid peroxidation의 진행을 차단하여 죽돌기의 손상을 회복시키며 단백뇨의 배설도 감소시키는 것으로 사료된다.

서 론

신증후군의 중요한 소견인 단백뇨의 발생 기전과 치료를 위하여 많은 연구들이 있어 왔다. 소아에서 발생하는 미세변화 신증후군은 성인에 비해 발생 빈도가 높고 스테로이드 치료로 관해가 잘 되지만 재발이 흔히 일어난다는 것이 치료시 문제점이다. 1955년 Frenk 등¹⁾은 puromycin aminonucleoside (PAN)를 쥐에게 투여하여 단백뇨를 유발시키며 사람의 미세변화

신증후군과 유사한 형태학적 변화를 일으킨다고 보고한 이래 신증후군의 실험적 동물 모델로서 널리 이용되어 왔다. PAN에 의해 초래되는 단백뇨의 기전은 사구체 상피세포의 주된 손상에 의해 발생한다고 알려져 있다. 상피세포의 변화가 단백뇨에 의해 이차적으로 생긴 것이라는 주장도 있지만^{2,4)} 주로 PAN이 상피세포에 직접 독성작용을 나타내어 세포질의 공포화를 일으킨다고 한다. 이때 사구체 기저막의 음이온 부위의 변화와 세뇨관에서 단백 재흡수 장애로 인해 단백뇨가 발생한다고 한다.

그런데 이런 상피세포에 대한 손상의 명확한 원인은 아직 밝혀져 있지 않다. 근래의 연구들에 의하면 세포손상에 oxygen free radical이 중요한 역할을 한다고 보고되고 있으며, antioxidant가 부족하거나 보충

접수: 1999년 2월 10일, 승인: 1999년 3월 15일
책임저자: 박용훈, 영남의대 소아과학교실
Tel: 053-620-3530 Fax: 053-629-2252

투여한 상태에서 PAN을 주었을 때 사구체 상피세포의 손상 정도가 다른 것으로 보아 oxygen free radical이 PAN 신손상을 일으키는 중요한 한 원인으로 설명되고 있다^{6,7)}.

이 실험에서는 PAN을 1회 투여하여 미세변화 신증후군으로 단백뇨를 나타내기 시작하는 시점부터 antioxidant인 α -tocopherol을 투여하였을 때 나타나는 생화학적 및 형태학적변화를 관찰함으로써, PAN 투여 후 나타나는 단백뇨의 회복에 미치는 antioxidant의 영향을 알기 위하여 연구하고자 하였다.

재 료 및 방 법

실험동물은 건강하게 보이는 180~300gm의 Sprague-Dawley 수컷 쥐를 사용하였다. 실험군은 3군으로 나누었다. I군은 대조군으로서 6마리의 흰쥐에 0.5 mL의 생리식염수를 1회 복강내에 주사하였고, II군의 8마리 흰쥐에는 PAN (Sigma, IL, U.S.A.)을 체중 100 g당 7.5 mg씩 1회 정맥주사하였고, III군은 7마리로 PAN을 투여한 후 6일째부터 12일간 매일 α -tocopherol (Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, N.J., U.S.A.)을 7마리 흰쥐에게 체중 100g당 0.5 mg씩 근육주사하였다.

사료는 페레트형의 압축사료(0.3% sodium, 23.3% 단백질 함유)를 사용하였고 수분 섭취는 자유롭게 하도록 하였다. 그리고 실험동물은 투약 후 항온(22°C), 항습(50%) 상태에서 사육하였다.

PAN 투여 직전, 투여 후 5일, 11일, 18일째 24시간 뇨를 채취하여 protein, sodium, creatinine을 측정하였고, 요중 sodium의 정량은 Ion selective electrode법, creatinine은 Jaffe법, protein은 trichloroacetic acid를 이용한 turbidometry법으로 측정하였다.

PAN 투여 제 18일째에 sodium phenobarbital 마취하에 개복하여 복부 대동맥에서 8 mL 가량의 혈액을 채취하였고 신장을 적출하였다. 채취한 혈액의 혈청 total protein은 Biuret법, albumin은 Dye-binding법, sodium은 Ion selective electrode법, creatinine은 Jaffe법, cholesterol은 Enzymatic colorimetry법을 이용하여 측정하였고, Fractional Na⁺ excretion (FE_{Na})과 creatinine clearance를 산출하였다.

적출한 신장 한쪽에서는 피질을 이용하여 과산화 지질함량을 Ohgawa 방법⁸⁾에 의해 효소 시료속의 과산화 지질을 산성조건하에서 thiobarbituric acid 용액과 가열반응시켜 생긴 물질을 532 nm에서 흡광도를 측정

함으로써 측정하여 그 함량을 조직 1g당 nmole로 표시하였다. 그리고, 적출한 신장에서 환원형 glutathione 함량은 Ellman 방법⁹⁾으로 조직 미세균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5mL를 가하고 원심분리한 후, 상층액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) 함유한 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrothiophenol을 측정하였고 그 함량은 조직 g당 μ mole로 표시하였다.

그리고 나머지 한쪽의 신장은 형태학적인 검사를 위하여 광학현미경과 전자현미경 검사의 표본으로 사용하였다. 광학현미경 검사를 위한 표본은 10% 중성 포르마린에 고정된 다음 파라핀 포매로 2 마이크론 두께로 연속 박절하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색과 periodic acid Schiff (PAS) 염색을 시행하였다. 전자현미경적 관찰을 위한 신조직 절편은 1mm³ 크기로 자른 후 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 0~4°C에서 2시간 고정하고, 0.1 M PBS로 세척한 후 1% OsO₄ 용액에 2시간 후고정을 실시하고 같은 완충용액으로 세척하여 계열 에탄올로 탈수하였다. Propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법¹⁰⁾에 의한 opan 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치한 후 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μ m 두께로 박절하여 toluidine blue 염색을 하였으며, 관찰 부위를 결정한 다음, Sorvall MT 6000형 초박절기에서 Dupont 다이아몬드 칼을 이용하여 회백색(40~60 μ m)의 간섭색을 나타내는 초박절편을 얻었다. Grid에 부착 하여 Watson¹¹⁾ 및 Reynolds 방법¹²⁾에 의한 Uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 후 Hitachi H-7000A 투과 전자현미경으로 검정하였다.

실험 성적은 mean \pm SD로 표시하였고, 통계처리는 Wilcoxon rank sum test를 사용하였으며, P<0.05인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

PAN 투여 전과 투여 후 5일, 11일, 18일째의 24시간 뇨 protein/creatinine 비는 I군에서 각각 1.8 \pm 0.6, 1.7 \pm 1.6, 2.7 \pm 1.7, 2.8 \pm 1.3이고, II군은 2.2 \pm 2.1, 12.2 \pm 13.1, 194.9 \pm 149.4, 257.7 \pm 292.8이었으며, III군에서는 3.7 \pm 3.3, 14.4 \pm 13.6, 46.7 \pm 40.1, 13.2 \pm 8.4로서 5일 이후에는 II, III군에서 각각 대조군과 비교해 유의하게 단백뇨가 증가하였다(P<0.01). 그러나 18일째에는 α -tocopherol을 투여한 III군의 경우 PAN을 단독 투여한

Table 1. Changes of urine protein/creatinine in each studygroups

Group	Day 0	Day 5	Day 11	Day 18
Control (n=6)	1.8±0.6	1.7±1.6	2.7±1.7	2.8±1.3
PAN (n=8)	2.2±2.1	12.2±13.1*	194.9±149.4**	257.7±292.8**
PAN+ α -tocopherol(n=7)	3.7±3.3	14.4±13.6*	46.7±40.1*	13.2±8.4*, ^a

* $P<0.05$: compared with group I

** $P<0.01$: compared with group I

^a $P<0.05$: compared with group II

Table 2. Total serum protein, albumin, cholesterol on day 18

Group	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Cholesterol (mg/dL)
Control (n = 6)	6.2±0.3	3.2±0.2	65.2±9.9
PAN (n = 8)	5.8±0.4	2.5±0.2*	115.0±80.9*
PAN+ α -tocopherol(n=7)	5.9±0.2	2.9±0.3	66.3±29.4

* $P<0.05$: compared with group I

Table 3. Serum creatinine and FENa and creatinine clearance on day 18

Group	Serum creatinine (mg/dL)	FENa (%)	Creatinine Clearance (mL/min/100 g)
Control (n = 6)	0.5±0.1	0.4±0.2	2.0±0.6
PAN (n = 8)	0.4±0.1	0.5±0.2	1.7±0.5
PAN+ α -tocopherol(n=7)	0.4±0.1	0.2±0.1	1.9±0.8

Table 4. Lipid peroxide and reduced glutathione on day 18

Group	Lipid Peroxide (nmole/g of tissue)	Reduced Glutathione (μ mole/g of tissue)
Control (n=6)	1.32±0.10	1.08±0.08
PAN (n=8)	1.77±0.32*	1.38±0.18*
PAN+ α -tocopherol(n=7)	1.27±0.09	1.15±0.17

* $P<0.05$: compared with group I and III

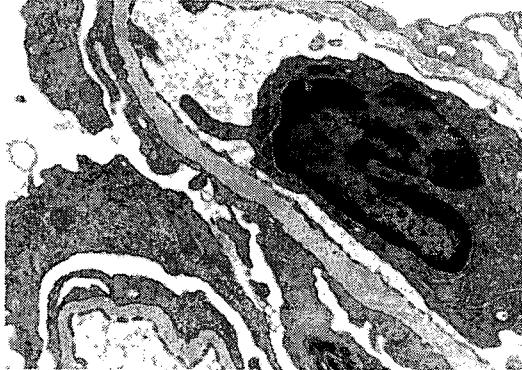


Fig. 1. Electron microscopically, characteristic diffuse fusion of glomerulus is present in puromycin only group. uranyl acetate and lead citrate, $\times 13,000$

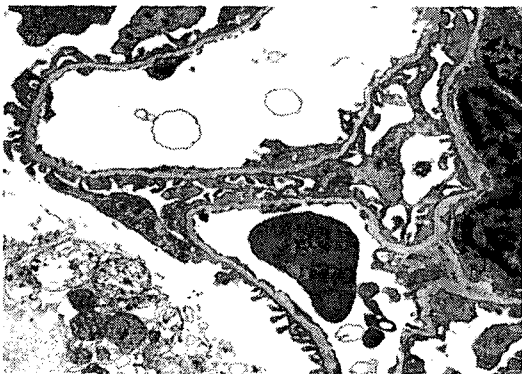


Fig. 2. In the group of α -tocopherol administration, half of the foot processes is still fused but another half show regenerative change. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 12,000$

II군에 비해 유의하게 단백뇨가 적었다 ($P < 0.05$)(Table 1).

18일째 시행한 혈청 protein과 albumin은 I군에 비해 II, III군에서 낮았으나 PAN 단독 투여한 II군의 혈청 albumin만이 유의성이 있었다($P < 0.05$). 혈청 cholesterol은 II군에서 현저하게 증가하였다 ($P < 0.05$)(Table 2).

혈청 creatinine, FE_{Na} 과 creatinine clearance은 실험군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 3).

그리고 18일째 채취한 신장의 피질로 검사한 lipid peroxide과 reduced glutathione은 II군에서는 대조군에 비해 유의하게 증가하였으나($P < 0.05$), III군에서는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4).

광학 현미경 검사에서는 실험군에 따른 사구체나 세뇨관의 특기할 만한 변화를 관찰할 수 없었다. 또한 사구체 혈관의 경화증 등은 관찰되지 않았다. 투과 전자 현미경 관찰에서는 PAN을 투여한 경우 기저막 죽들기의 융합이 심하였으며 장측 상피세포의 경한 부종 및 세포질 내의 공포의 출현들이 가끔 관찰되었다 (Fig. 1). PAN을 투여한 후 단백뇨가 나타나고 난 후부터 α -tocopherol을 투여한 경우에는 관찰 부위에 따라 기저막 죽들기가 부분적으로 혹은 전체적으로 잘 재생되어 있었다 (Fig. 2).

고 찰

PAN에 의해 발생하는 사구체 질환의 모델은 사람의 미세변화 신증이나 국소성 분절성 사구체 경화와 유사한 형태학적인 변화를 나타낸다고 알려져 있다. PAN 투여를 1회 하였을 때는 미세변화 신증이 나타나는 반면, 반복적으로 투여하면 국소성 분절성 사구체 경화와 같은 상이한 변화를 나타내므로 이를 이용하여 동물실험에서 사용되고 있다. PAN 신증이 발생하는 기전에 대하여서는 명확히 밝혀져 있지 않았으나 1986년 Diamond 등⁵⁾이 PAN에 의한 신증에서는 xanthine oxidase pathway로부터 생성된 oxygen free radical이 조직 손상에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

Oxygen free radical에 의한 PAN 신증에 관한 연구에서 PAN을 1회 투여하였을 때 형태학적으로 신상피 세포 죽들기의 소실, 부분적 결손 및 융합, 투과간격의 감소, 미용모의 출현과 사구체 기저막의 흡이온부하의 감소 등이 나타난다고 한다^{13,19)}.

Oxygen free radical이 PAN 신증의 발생 원인이 됨이 알려지면서 antioxidant를 사용한 연구가 많아졌는데, Pedraza-Chaverri 등²⁰⁾은 vitamin E가 부족한 먹이를 준 쥐에서 그렇지 않은 먹이를 준 쥐보다 의미있게 심한 단백뇨와 저하된 신기능과 손상된 신조직 소견을 보였음을 증명하였다.

Diamond 등⁵⁾의 연구에서는 PAN 투여 8일째에 광학 현미경에서 mesangial 세포의 증식, 사구체 모세 혈관의 변화, 상피 세포질 수포화 등의 사구체 변화를 관찰하였다고 보고하였고 또, 이 연구에서는 PAN과 동시에 superoxide dismutase와 allopurinol을 실험 동물에 투여하였을 때 PAN 단독 투여시에 비해 뇨 단백 배설량이 유의하게 감소하고 형태학적인 개선을 보여 PAN의 대사과정 중에서 xanthine oxidase에

의해 생성된 oxygen free radical이 단백뇨의 주 원인이 됨을 증명하였다. 이 외에도 여러 연구들^{5,7)}에서 PAN 신증에서 superoxide dismutase를 동시 투여하여 신증이 호전됨을 보고하여 oxygen free radical이 PAN에 의해 유도된 단백뇨의 병인임을 증명하였다. Thakur 등²⁰⁾은 PAN과 동시에 hydroxyl radical scavenger인 dimethylthiourea (DMTU), sodium benzoate (BENZ) 혹은 hydroxyl radical 생성에 관여하는 철의 chelator인 deferoxamin (DFO)를 투여한 결과에서도 뇨 단백 배설량이 현저히 감소함을 증명하였다. 전자 현미경 관찰에서는 PAN 단독 투여군에서 심한 죽돌기의 소실을 보였지만 allopurinol 또는 superoxide dismutase 투여군에서는 죽돌기의 소실이 감소되었다고 보고하였다.

그러나 Beaman 등⁶⁾, Ricardo 등²²⁾은 광학 현미경상에서는 사구체의 변화가 없었다고 하였다. 본 연구에서도 puromycin 투여 18일째까지 광학 현미경상에서는 사구체 변화를 관찰할 수 없었다.

1990년 Higuchi⁷⁾는 superoxide dismutase와 PAN을 동시 투여하여 PAN 단독 투여군보다 죽돌기의 소실이 감소되는 것을 보고하였고, Thakur 등²¹⁾은 DMTU와 PAN을 동시 투여하여 PAN 단독 투여군보다 죽돌기의 소실이 감소되는 것을 보고하여 oxygen free radical이 주로 죽돌기에 영향을 주어 단백뇨가 발생함을 시사하였다. Ricardo 등²²⁾은 실험적 연구에서 Medium-199에서 쥐의 신장 박편에 PAN을 첨가시 oxygen free radical인 superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical이 생성됨을 밝혀냈으며, PAN과 항산화제인 α -tocopherol/ascorbic acid와, probucol을 동시에 첨가하였을 때, oxygen free radical의 생성을 억제하며, PAN 단독 투여군과 비교하여 죽돌기의 소실이 지연됨을 보고하였다.

그리고, Andrews 등^{23,24)}은 PAN 신증에서 oxygen free radical과 oxygen free radical에 의해 유도된 lipid peroxidation의 생성물이 사구체 상피 세포 죽돌기의 기질을 구성하고 있는 actin filaments를 소실시키고 integrins을 변화시켜 세포 골격 자체의 변화를 초래함으로써 죽돌기가 소실되고, antioxidant는 oxygen free radical에 의한 microfilaments와 integrins의 손상을 보호하여 사구체 죽돌기의 소실을 감소시킨다고 보고하였다.

본 연구에서 사용한 α -tocopherol은 세포막의 불포화 지방산 가운데 oxygen free radical로 시작되는 연쇄 반응을 파괴시켜 lipid peroxidation의 이차 생성물인 toxic hydroperoxide의 생성을 예방하는 항산화제이다²⁵⁾.

Trachtman 등²⁶⁾은 vitamin E가 만성 PAN 신증에서도 신장 기능과 사구체의 형태학적 개선효과가 있다고 보고하였는데, 이는 oxygen free radical에 의한 lipid peroxidation이 신손상을 일으키는 것을 억제함으로써 나타내었다.

이전의 antioxidant를 사용한 동물실험 연구에서는 사료에 α -tocopherol에 첨가하거나 사제시키는 방법으로 효과와 발생 기전을 연구하였으나 본 연구에서는 PAN을 1회 투여한 후 단백뇨를 유발시킨 후에 α -tocopherol을 근육주사로 투여하여 보다 적절한 혈중 농도 또는 조직내 농도를 유지할 것을 기대하고 그 변화를 관찰하였는데, 이로써 신기능과 사구체의 죽돌기의 변화가 PAN 단독 투여군에 비해 현저하게 호전되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러므로 PAN 신증의 발생 후에 사용한 α -tocopherol이 oxygen free radical에 의한 lipid peroxidation이 진행되는 것을 차단함으로써 신조직의 손상을 가역적으로 회복시키는데 중요한 역할을 한다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Frenk S, Antonowicz I, Craig JM, Metcalf J: Experimental nephrotic syndrome in rats by aminonucleoside. Renal lesion and body electrolyte composition. Proc Soc Exp Biol Med 89:424-7, 1955
2. Blau EB, Michael AF: Rat glomerular basement membrane composition and metabolism in aminonucleoside nephrosis. J Lab Clin Med 77:97-109, 1971
3. Blau EB, Michael AF: Rat glomerular basement membrane composition and metabolism in aminonucleoside nephrosis. Proc Soc Exp Biol Med 141:164-72, 1972
4. Bohrer EB, Baylis C, Robertson CR, Brenner BM: Mechanism of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. J Clin Invest 60:152-61, 1977
5. Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ: A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. Kidney Int 29:478-83, 1986
6. Beaman M, Birtwistle R, Howie AJ, Michael J, Adu D: The role of superoxide anion and

- hydrogen peroxide in glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside in rats. *Clin Sci* 73:329-32, 1987
7. Higuchi A: Effects of human Cu, Zn-superoxide dismutase in aminonucleoside nephrosis evaluation of the morphologies and glomerular basement membrane anionic charge sites. *Jpn J Nephrol* 32:767-75, 1990
 8. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-8, 1979
 9. Ellman GL: Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82:70-7, 1959
 10. Luft JH: Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophysic Biochem Cytol* 9:409-17, 1961
 11. Watson ML: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophysic Biochem Cytol* 6:475-9, 1958
 12. Reynolds ES: The use of lead citrate at high PH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 17:208-12, 1963
 13. Borowsky BA, Kessner DM, Recant L: Structural analogue of puromycin in production of experimental nephrosis in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 97:857-60, 1958
 14. Farquhar MC, Palade GE: Glomerular permeability: II. Ferritin transfer across the glomerular capillary wall in nephrotic rats. *J Exp Med* 114:699-715, 1961
 15. Feldman JD, Fisher ER: Renal lesions of aminonucleoside nephrosis as revealed by electron microscopy. *Lab Invest* 8:371-85, 1959
 16. Fiegelson EB, Drake JW, Recant L: Experimental aminonucleoside nephrosis in rats. *J Lab Clin Med* 50:437-46, 1957
 17. Ryan GB, Karnovsky MJ: An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 8:219-32, 1975
 18. Cohen AH, Mampaso F, Zambony L: Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. *Lab Invest* 37:30-42, 1977
 19. Ryan GB, Rodewald R, Karnovsky MJ: An ultrastructural study of the glomerular slit diaphragm in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 33:461-8, 1975
 20. Pedraza-Chaverri J, Arevalo AE, Hernandez-Pando R, Larriva-Sahd J: Effect of dietary antioxidants on puromycin aminonucleoside nephrotic syndrome. *Int J Biochem Cell Biol* 27(7):683-91, 1995
 21. Thakur V, Walker PD, Shah SV: Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria. *Kidney Int* 34:494-9, 1988
 22. Ricardo SD, Bertram JF, Ryan GB: Reactive oxygen species in puromycin aminonucleoside nephrosis, In vitro studies. *Kidney Int* 45:1057-69, 1994
 23. Andrews PM, Batees SB: Filamentous actin bundles in the kidney. *Anat Rec* 210: 1-9, 1984
 24. Andrews PM: Morphological alterations of the glomerular (visceral) epithelium in response to pathological and experimental situations. *J Electron Mic Tech* 9:115-44, 1988
 25. Burton KW, Ingold KU: Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann NY Acad Sci* 570:7-21, 1989
 26. Trachtman H, Schwob N, Maesaka J, Valderrama E: Dietary vitamin E supplementation ameliorates renal injury in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *J Am So Nephrol* 5:1811-9, 1995

= Abstract =

The Effect of α -Tocopherol in Puromycin Aminonucleoside Induced Nephropathy in Rats

Hyung Ho Seo M.D., Tae Sung Jung M.D., Eun Sil Lee, M.D., Son Moon Shin, M.D.

Yong Hoon Park M.D., Yong Jin Kim, M.D.

Department of Pediatrics and Pathology, Yeungnam University, College of Medicine, Taegu, Korea

Purpose : The single administration of PAN(Puromycin-Aminonucleoside) to rats results in nephropathy that are similar to human minimal change nephrotic syndrome. Recently several studies indicate the pathophysiological importance of oxygen free radicals in rats with PAN-induced nephrosis. This study was conducted to evaluate the effect of α -tocopherol, an oxygen free radical scavenger, on the histologic and biochemical changes of PAN-induced nephrosis in rats.

Methods : Twenty-one Sprague-Dawley rats weighing 180-300 gm were divided into 3 groups. In group I (control group), the rats were given saline intraperitoneally for 12 days, in group II the rats were given PAN 7.5mg/100g of body weight intravenously one time and group III PAN intravenously, followed by α -tocopherol 0.5 mg/100g of body weight intramuscularly for 12 days. Twenty four hour urinary protein and creatinine excretion were measured on day 0, 5, 11 and 18. On the 18th day, rats were sacrificed for the determination of total serum protein, albumin and cholesterol levels. To estimate renal injuries by oxygen free radical, lipid peroxide concentration and reduced glutathione were measured in renal cortex. Histological examination in rat glomerular lesions were performed.

Results : From the 5th days of PAN administration, urine protein/creatinine of group II and III were significantly increased compared the group I ($P<0.05$). But, urine protein/creatinine of group III was significantly lower than group II at 18th days ($P<0.05$). Total serum protein and albumin of group II were significantly lower than those of group III ($P<0.05$). Serum cholesterol of group II was significantly higher than that of group III ($P<0.05$). Lipid peroxide and reduced glutathione in renal cortex of group II were significantly higher than that of group I and III ($P<0.05$). Electron microscopic studies of group II showed the loss of epithelial foot processes, but in group III showed preservation of epithelial foot processes.

Conclusion : PAN-induced nephropathy was ameliorated significant recovery of foot process change and reduction of the urinary protein excretion by antioxidant, α -tocopherol.

Key words : Puromycin aminonucleoside, α -tocopherol, Antioxidant, Nephropathy