

저염식을 이용한 cyclosporine 신독성에서 angiotensin converting enzyme inhibitor의 영향

영남대학교 의과대학 소아과학교실, 약리학교실*, 병리학교실**

이은주, 이은실, 하정희*, 김용진**, 박용훈

< 한 글 요 약 >

목 적 : Cyclosporine(CsA)는 면역 억제제로서 중요한 역할을 하고 있지만 가장 중요한 부작용인 신독성 때문에 사용에 제한이 있다. 이에 저염식을 한 쥐에서 유발되는 만성 CsA 신증에서 angiotensin converting enzyme 억제제(ACEI)가 미치는 영향을 검색하고자 하였다.

대상 및 방법 : 흰 쥐를 대상으로 하여 표준식이(NSD), 저염식이(LSD), NSD+ CsA, LSD+ CsA, NSD+ CsA + ACEI, LSD+ CsA+ ACEI를 1-6군으로 분류하여 공급하였다. 6주 후 혈중 CsA농도, 혈청 sodium, potassium, GFR을 측정하였고, 신장의 조직검사를 시행하였다.

성 적 : 혈중 CsA농도와 sodium치는 각 군간에 차이가 없었고 potassium치는 CsA 단독 투여시에는 식이군간에 차이가 없었으나, CsA와 ACEI를 병용 투여시에는 NSD군에 비해서 LSD군에서 유의하게 증가하였다 ($P < 0.05$). 사구체 여과율은 CsA만 투여한 경우나 CsA와 ACEI를 병용투여한 경우에서 NSD군에 비해 LSD군에서 유의하게 감소하였고 NSD를 시행한 경우에는 CsA만 투여한 경우보다 ACEI를 병용투여했을 때 GFR이 더 감소하였다 ($P < 0.05$). 조직학적 소견은 CsA 투여에 의한 근위부 세뇨관 위축, 간질의 섬유화와 PAS염색 양성인 과립들이 출현하였고 이는 NSD군보다 LSD군에서 더 저명하였으며 ACEI를 병용시에도 LSD군에서 이러한 변화가 더 저명하게 관찰되었으나 ACEI 투여 전과는 큰 차이를 보이지 않았다.

결 론 : 본 연구에서는 염분 부족은 renin-angiotensin system을 활성화해서 CsA 신증을 더욱 가중시키며, ACEI는 LSD로 유발된 CsA 신증에서 신기능의 화학적 지표와 조직학적으로 더욱 악화시켰다. 이 결과로 LSD로 인해 더욱 조장될 수 있는 간접적인 신허혈 상태에서는 ACEI는 신관류를 개선하지 못하고, 이로 인해 신독성이 더욱 악화될 수 있을 것으로 생각되었다.

서 론

Cyclosporine (CsA)는 곰팡이의 일종인 *Tricoderma polysporum*이나 *Clydrocarpon lucidum*으로부터 만들어지는 11개의 아미노산으로 구성된 비극성 cyclic polypeptide 항생제로서, 장기 이식의 성공률을 크게 향상 시켰으며, 최근에는 장기 이식을 받은 환자나 자

가 면역 질환의 치료를 위한 면역 억제제로서 중요한 역할을 하고 있다.

그러나 CsA는 신독성, 간독성, 전해질 불균형, 진전, 잇몸비후, 고혈압과 다모증 등의 많은 부작용들을 가지고 있다. 이 중 신독성은 가장 중요한 부작용으로서, 특히 신장이식 후나 신장 질환의 치료를 위하여 사용하는 경우에는 심각한 문제점을 야기하게 된다.

CsA에 의한 신독성의 병태 생리는 명확히 밝혀지지 않는 않지만, CsA 투여로 인해 사구체 혈액학의 변화 특히 신혈관 수축을 유발하는 여러가지 요인들에 의해 신혈관 저항이 증가하게 되고 이로 인해 신혈류

접수: 2000년 9월 10일, 승인: 2000년 11월 2일
책임저자: 박용훈, 영남의과대학 소아과학교실
전화: (053) 620-3532 FAX: (053) 629-2252
E-mail: yhpark@medical.yeungnam.ac.kr

와 사구체 여과율의 감소가 초래되어 사구체 허혈이 유발된다. 또한 CsA 자체가 혈관 수축 기능을 가지고 있으므로 이러한 요인들이 상호 작용하여 급성 신증이 생기게 된다²

동물 실험과 임상 실험을 통한 연구들에서 CsA 신증과 CsA로 인한 고혈압에 관여하는 기전들로는 염분 저류, 신장 혈관 수축, renin-angiotensin system의 자극, 교감 신경계의 활성화, NO 생성 장애, endothelin 생성의 증가, 그리고 신장조직내 prostanoid와 thromboxane 생성의 변화 등이 관여한다고 보고되었다³

최근 CsA 신독성을 야기하는데 중요한 역할을 하는 renin-angiotensin-aldosterone의 축을 조절하는 angiotensin converting enzyme 억제제(ACEI)나 angiotensin 수용체 길항제의 사용이 신혈류를 개선하는 효과로 인해 신독성을 완화할 수 있다는 연구들이 진행 중이다. 그러나 이런 연구들은 정상 염분 함량의 표준식을 공급한 실험동물에서 관찰한 결과들로서 CsA 투여로 인한 충분한 변화를 관찰하는 데 한계가 있다.

이에 본 연구에서는 저염식으로 좀더 저명한 신독성을 유발시킨 실험동물을 대상으로 ACEI가 CsA 유발 신증에 미치는 영향을 검색하였다.

대상 및 방법

실험 동물은 건강하게 보이는 수컷 흰 쥐 (Fischer 344, 190~210 g) 36 마리를 사용하였다. 실험에 사용한 사료는 혼합 분말을 만들어서 사용하였다. 표준식은 0.4% sodium이 함유된 분말 사료를 사용하였고, 저염식은 0.05% sodium이 함유된 분말 사료를 사용하였다. 저염식을 만들기 위하여 sodium의 함량은 Teklad사 (Teklad Premier, Madison, U.S.A.) 제품의 mineral 혼합물을 사용하여 조절하였다. 실험에 사용한 cyclosporine은 종근당에서 개발한 microemulsion 형태의 Cipol-N[®]을 사용하였고, ACEI는 enalapril (Rנית[®], 중외제약)을 사용하였다.

먼저 실험동물에 공급될 약물의 양을 정량하기 위하여 체중이 약 190~210 g인 흰 쥐가 하루에 약 15~20 g의 사료를 먹는 것을 확인하고, 사료 1 g 당 CsA는 300 µg, enalapril은 100 µg을 혼합하여 투

여하였는데, 이는 CsA는 30 mg/kg/일, enalapril은 10 mg/kg/일에 상당하였다. 사육실은 평균 온도 21±1°C의 일정한 온도로 유지시켰으며, 12시간 간격으로 빛 조절이 되는 실내에서 표준식의 사료로 1주일간 적응시킨 후 실험을 실시하였다. 실험군은 식이의 종류와 투여 약물에 따라 총 6개의 실험군으로 분류하였다.

제1군인 대조군 (표준식이군, normal salt diet; NSD, n=4)은 표준식이인 분말사료에 올리브 기름을 혼합하여 공급하였으며, 제2군인 저염식이군 (low salt diet; LSD, n=4)은 저염식이에 올리브 기름을 혼합하여 공급하였다. 제3군 (NSD+ CsA, n=7)은 표준식이에 CsA를 혼합하여 공급하였으며, 제4군 (LSD+ CsA, n=7)은 저염식이에 CsA를 혼합하여 공급하였다. 제5군 (NSD+ CsA+ ACEI, n=7)은 표준식이에 CsA와 ACEI (enalapril)을 혼합하여 공급하였으며, 제6군 (LSD+ CsA+ ACEI, n=7)은 저염식이에 CsA와 ACEI를 혼합하여 공급하였다.

매일 먹는 사료의 양을 관찰하였고 흰 쥐의 몸무게를 1주일마다 측정하여 사료의 양과 약물의 용량을 faired feeding이 되게 조절하였으며, 물은 제한하지 않고 먹도록 하여 6주간 사육하였다.

6주 후에 흰 쥐를 희생시키기 전에 single-sample method⁴를 통한 사구체 여과율(GFR) 측정을 위해서 실험동물에 Technetium-99m-DTPA(500 µ Ci/마리)를 복강내 주사하였다. 그 후 한 시간 후에 각 실험군을 ether로 마취하고 복강을 절개하여 대동맥을 통해서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 1개의 EDTA tube와 2개의 시험관에 각각 나누어 담고 곧 바로 신장 조직을 적출하였다.

CsA 혈중 trough 농도 측정은 실험 마지막날에 EDTA tube에 담은 전혈로 Abbott monoclonal fluorescence polarization immunoassay, TDX 방법으로 측정하였다.

시험관은 원심 분리하여 혈청을 얻었으며 자동화 학분석기 (Hitachi 747, Japan)를 이용하여 혈중 sodium과 potassium을 측정하였다.

Technetium-99m-DTPA의 혈액내 제거율을 계산

하여 사구체 여과율을 다음과 같이 계산하였다.

$$GFR = (V/t) \times \log_n(P0/Pt)$$

$$V = 0.264BW - 1.92 \times 10^{-4}BW^2 + 1.03$$

$$PS (cpm/ml) = I (cpm)/V(ml)$$

Pt (cpm/ml) : cpm of plasma
 BW : body weight
 I : cpm of control
 t : time

형태학적인 변화의 관찰을 위하여 광학 현미경 검색을 하였다. 광학현미경 검색을 위한 표본은 10% 중성 포르말린 용액에 고정한 다음 파라핀 포매를 하여 3~4 μm 두께로 연속 박절하여 hematoxylin & eosin(H & E)염색과 periodic acid schiff(PAS)염색을 하여 관찰을 하였다.

실험 성적은 평균±표준오차로 나타내었으며, 실험성적의 통계학적 유의성 검정은 independent-samples T-test를 사용하였다. P<0.05의 값을 통계적으로 유의성이 있는 것으로 평가하였다.

결 과

생화학적 검사 결과 혈중 sodium(mEq/L)은 표준 식이를 한 NSD에서는 146.0±0.8, NSD+ CsA는

142.5±1.5, NSD+ CsA+ ACEI는 138.1±2.0이었으며, 저염식을 한 LSD에서는 142.5±1.3, LSD+ CsA는 141.3±1.5, LSD+ CsA+ ACEI는 138.5±1.3으로서 염분 섭취량, CsA나 ACEI의 투여가 혈중 sodium 농도에 영향을 주지 않았다 (Table 1).

혈중 potassium(mEq/L)은 표준식을 한 NSD에서는 4.3±0.6, NSD+ CsA는 4.3±0.4, NSD + CsA+ ACEI는 4.6±0.3이었고, 저염식을 한 LSD에서는 4.7±0.2, LSD+ CsA는 4.8±0.3, LSD+ CsA+ ACEI에서는 6.6±0.7이었다. ACEI를 투여하지 않고 CsA만 투여했을 때는 표준식이와 저염식이간의 두 군에서 의미있는 차이를 보이지 않았으나, 저염식을 하면서 CsA와 ACEI를 모두 투여한 군에서는 유의하게 상승되어 있었다 (P<0.05, Table 1, Fig 1).

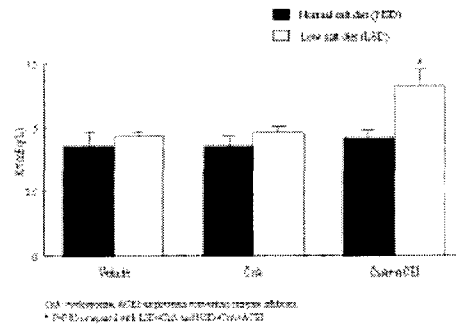


Fig 1. Level of serum potassium in each groups

Table 1. Changes of biochemical parameters in each groups

Group	Na+ (mEq/L)	K+ (mEq/L)	GFR (ml/min/g)	CsA blood level (μg/mL)
NSD	146.0±0.8	4.3±0.6	2.3±0.3	-
LSD	142.5±1.3	4.7±0.2	2.1±0.2	-
NSD+ CsA	142.5±1.5	4.3±0.4	1.6±0.1	3.7±0.4
LSD+ CsA	141.3±1.5	4.8±0.3	1.0±0.2 *	4.3±0.7
NSD+ CsA+ ACEI	138.1±2.0	4.6±0.3	1.1±0.2 †	4.0±0.2
LSD+ CsA+ ACEI	138.5±1.3	6.6±0.7 ‡, §	0.9±0.2 ‡	3.7±0.4

NSD: normal salt diet

LSD: low salt diet

CsA: cyclosporine

ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor

* P<0.05 compared with NSD+ CsA

† P<0.05 compared with NSD+ CsA

‡ P<0.05 compared with NSD+ CsA+ ACEI

§ P<0.05 compared with LSD+ CsA

사구체 여과율(ml/min/g)은 표준식을 한 NSD에서는 2.3 ± 0.3 , NSD+ CsA는 1.6 ± 0.1 , NSD+ CsA+ ACEI에서는 1.1 ± 0.2 였고, 저염식을 한 LSD에서는 2.1 ± 0.2 , LSD+ CsA에서는 1.0 ± 0.2 , LSD+ CsA+

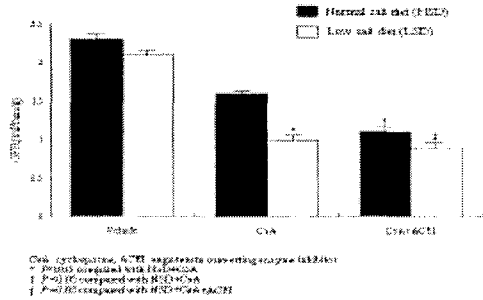


Fig 2. Glomerular filtration rate in each groups

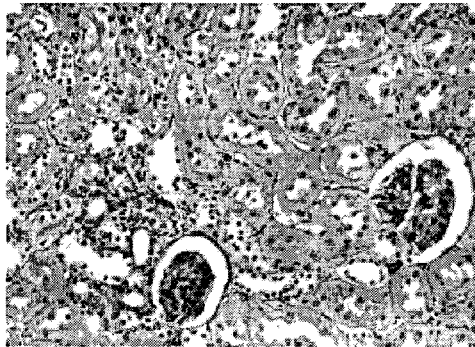


Fig 3. NSD+ CsA GROUP. Renal light microscopic changes are focal interstitial fibrosis and tubular atrophy. Glomeruli are intact. (PAS, $\times 200$)

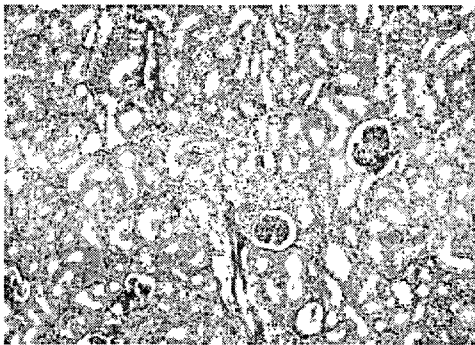


Fig 4. LSD+ CsA group. Compared with NSD+ CsA, renal changes are more prominent in LSD+ CsA. Striped interstitial fibrosis and tubular atrophy are pronounced. (PAS, $\times 100$)

ACEI에서는 0.9 ± 0.2 이었다. 저염식을 한 군에 CsA 단독 또는 CsA와 ACEI를 모두 투여했을 때 사구체 여과율이 유의하게 감소하였으며, 특히 ACEI를 병용 투여 할 때는 식이의 염분과 관계없이 의미있게 감소하였다 ($P < 0.05$, Table 1, Fig 2).

혈중 CsA 농도 ($\mu\text{g/mL}$)는 NSD+ CsA에서는 3.7 ± 0.4 , NSD+ CsA+ ACEI는 4.0 ± 0.2 , LSD+ CsA에서는 4.3 ± 0.7 , LSD+ CsA+ ACEI는 3.7 ± 0.4 로서 CsA를 투여한 군간에 혈중 CsA 농도는 차이가 없었다 (Table 1).

신장의 형태학적 검색 결과, 대조군인 CsA를 투여하지 않은 표준식이군과 저염식이군에서는 사구체나 세뇨관의 구조는 정상이었으며 간질의 섬유화 등은 관찰되지 않았다. 표준식을 시행하면서 CsA를 투여한 군에서는 세뇨관 특히 근위부 세뇨관 상피세포에서 PAS 염색에 양성으로 나타나는 작은 과립들이 출현하였으며 국소적으로 세뇨관들이 위축되었으며 이들 주변으로는 섬유화 및 염증세포들이 침윤되어 있었으나, 사구체에는 이상 소견이 나타나지 않았다 (Fig 3). 저염식을 시행하면서 CsA를 투여한 군에서는 표준식이군에서 보다 세뇨관 위축의 영역이 더 넓어졌으며 PAS 염색에 양성으로 나타나는 작은 과립들이 출현이 더 증가하였고 간질의 섬유화나 염증세포의 침윤도 더 증가되어 관찰되었다 (Fig 4, 5).

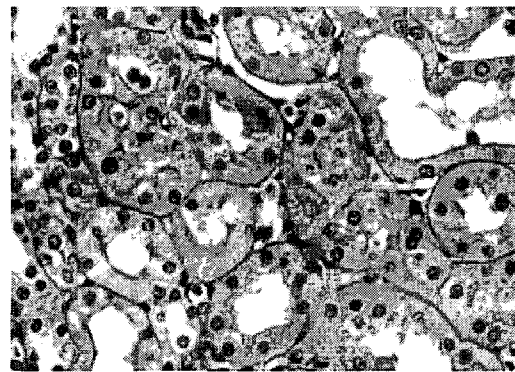


Fig 5. LSD+ CsA group. PAS positive granules are increased in their cytoplasm. (PAS, $\times 400$)

CsA와 ACEI를 병용투여시에는 표준식을 시행한 군에서는 세뇨관 위축이나 간질의 섬유화는 경하게 관찰되었으나 (Fig 6), 저염식을 시행한 군에서는 세

뇨관 위축 및 간질의 섬유화가 더 심하면서 PAS 염색에 양성으로 나타나는 작은 과립들의 출현이 더 증가되는 소견들 보였으나 ACEI를 투여하지 않은 군과는 큰 차이를 보이지는 않았다(Fig 7).

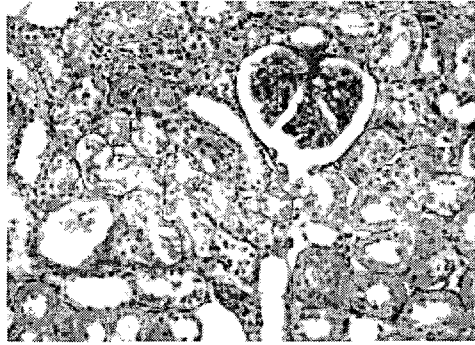


Fig 6. In NSD+ CsA+ ACEI, mild interstitial fibrosis and tubular atrophy are shown. (PAS, $\times 200$)

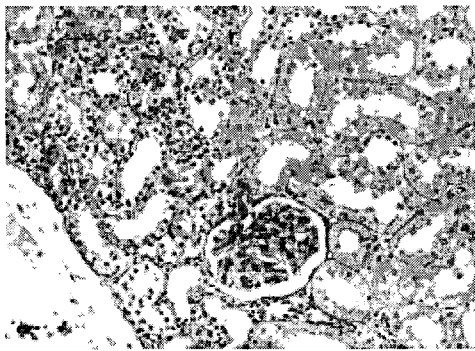


Fig 7. In LSD+ CsA+ ACEI, diffuse interstitial fibrosis and tubular atrophy are shown but morphologic changes are not so quite different from those of LSD+ CsA.(PAS, $\times 200$)

고 찰

급성 CsA 신독성은 endothelin, thromboxane, vasodilatory prostaglandin이나 nitric oxide 생성의 감소와 신장 교감 신경계의 활성화에 의해 일어나는 혈관 수축 때문인 것으로 알려져 있다⁵. 이에 비해 만성 CsA 신독성이 발생하는 기전은 아직 규명된 것이 많지 않다. 그러나 지금까지 연구된 바에 의하면 CsA는 angiotensin II와 angiotensin-dependent upregulation 뿐

만 아니라 TGF- β 와 osteopontin 등이 신장의 scar 형성에 매우 중요하게 작용한다고 알려졌다^{6,8}. 이들은 특히 신혈류에 영향을 주어 신허혈을 더욱 조장하는 역할을 하게 되어 신독성을 가중시킬 수 있다.

사람에서 생기는 만성 CsA 신독성에서는 세동맥벽의 초자화나 띠모양으로 간질의 섬유화가 일어나는 것이 특징적이다. 이 섬유화된 위치가 소동맥이 혈행을 담당하는 부위와 일치함으로써 그 부위의 혈류 감소를 인한 허혈성 변화가 섬유화를 일으켜 CsA 신독성을 나타내는 것으로 생각되어 진다. CsA는 renin-angiotensinogen-angiotensin I 과 II chain을 활성화시켜서 사구체 세동맥의 혈관 수축을 유발하게 되며 이로 인해 신혈류량과 사구체 여과율이 감소하게 된다⁹. 이외에도 CsA는 메산지움과 혈관 근육 수축을 더욱 증가시키게 되며, 이러한 변화는 세포내 calcium에 의해 더욱 촉진된다고 알려져 왔다¹⁰.

일반적으로 이 때까지 CsA에 의한 신독성 실험을 위하여 주로 설치류를 이용한 동물실험을 하여 왔으며 특히 흰 쥐를 이용하는 경우가 많았다. 그러나 흰 쥐에게 CsA를 투여 했을 때 신소동맥의 병변이나 신피질 간질에 섬유화 등의 병변이 매우 미약하여 CsA 신독성의 재현이 매우 어려웠다. Gerkens와 Branch¹¹)는 amphotericin에 의해 유발된 신증에서 salt loading이 병변을 악화시킨 것을 계를 대상으로 한 실험을 통해 증명한 이래로 약물 유발성 신증에서 염분의 섭취에 대한 연구가 진행되어 왔으며, Young등¹²)은 흰 쥐에게 만성적으로 저염식을 시키면서 CsA를 투여한 결과 사람에서 관찰된 신독성과 유사한 병변이 확인되었다고 보고하였다. 이 실험에서 신피질의 섬유화는 혈관 수축에 의한 허혈상태로 생긴 이차적 변화이며 섬유모세포나 단핵구세포에 의한 TGF- β 의 활성화에 의한 것으로 설명하고 있다. Bennett등⁵)도 만성 CsA 신증을 가진 동물 모델에서 기능적, 형태학적 연구 결과에서 CsA 신증을 촉진하는데 염분 부족이 중요한 역할을 함을 보고하였다. 염분 제한이 CsA 신증을 촉진시키는 기전은 확실하지는 않으나, 염분 부족이 tubuloglomerular feedback을 활성화시켜서 혈류량 부족에 의존해서 조절되는 사구체 인접 기구에서의 renin 분비를 활성화하여 CsA 신증을 더욱 가중시키

는데, 염분 부족에 의한 renin-angiotensin system의 활성화에 의해 생성된 angiotensin II의 혈관 수축 작용을 통해 신수질 내 허혈을 유발하고¹³⁾ 또한 CsA의 혈관 수축 작용에 의해 활성화된 angiotensin II가 혈관 수축 작용과는 독립적으로 섬유 조직의 증식을 자극하게 됨으로써 CsA 신증을 악화시킨다고 보고하였다¹⁴⁾ Elzinga 등¹⁹⁾의 연구에서도 흰 쥐의 만성 CsA 신증에서 염분의 부족이 CsA에 의한 세뇨관과 간질의 손상을 악화시킨다는 사실을 조직 소견으로 증명하였다. 본 연구에서도 표준식이를 한 군보다 저염식이를 하였을 때 신독성이 더 심한 것으로 나타났다.

본 연구에서는 CsA 신독성에 저염식이의 미치는 영향을 확인하고 최근 항고혈압제로서 진행성 신질환의 악화를 억제한다고 알려져 있는 ACEI가 CsA 신독성에 미치는 영향에 대한 연구를 시행하였다. 본 실험에서는 Adachi 등¹⁷⁾과 같이 만성 CsA 신독성의 재현을 위해서 6주간 CsA를 경구로 투여하였으며 이것은 이전에 CsA를 복강내로 주사를 했을 경우에 발생한 감염 등의 부작용을 감소시킬 수 있으면서 혈중 CsA 농도 유지에는 별 차이가 없어서 더 유용한 실험 방법으로 생각되었다.

CsA에 의해 유발된 신독성을 줄이기 위해 특별한 약제의 전처치나 병합 투여한 여러 가지 연구들이 진행되어 왔는데 그 방법으로는 thromboxane 생성 억제제(thromboxane synthase inhibitor)¹⁸⁾ vitamin E¹⁹⁾가 있었고, Anarat 등²⁰⁾은 ACEI로써 신증이 완화됨을 보고하였다. 그 중 ACEI인 enalapril 등은 항고혈압작용 뿐만 아니라 사구체 정수압을 감소시키고 ultrafiltration coefficient를 증가시켜 여러 가지 원인에 의한 신질환으로 발생하는 단백뇨를 줄여주고 사구체 손상을 예방할 수가 있다고 보고되어 왔으며²¹⁻²⁴⁾ Anarat 등²⁰⁾은 동물모델에서 enalapril을 CsA 치료전에 또는 병행하여 투여하였을 때 CsA 신증이 감소함을 보고한 바 있다. 이는 ACEI가 CsA에 의해 유도된 renin-angiotensin system의 upregulation을 억제하는 작용을 하며, 또 신장을 비롯한 다른 장기의 만성 병증에서 보이는 섬유화에 중요한 역할을 하는 TGF- β 의 mRNA 발현을 감소시키는 작용을 하기 때문으로 보

고되고 있다^{7,8,25)} 또한 TGF- β 뿐만 아니라 CsA 신독성시 신피질에서 procollagen alpha I의 mRNA 양^{6,26,27)}도 증가되어 있다고 보고되었으며 ACEI가 이를 감소시킨다고 한다²⁸⁾

그러므로 CsA 신독성을 완화시키는 데 ACEI가 중요한 역할을 한다는 기존의 연구들^{5,7)}을 토대로 볼 때, 저염식이를 한 CsA 신독성을 가진 흰 쥐에서도 ACEI가 신독성을 완화시켜 줄 것으로 추측하였으나, 본 연구에서는 신기능과 형태학적인 변화는 오히려 ACEI를 사용한 군에서 더 악화된 것으로 나타났다. 이는 Abu-Romeh 등²⁹⁾이 신장 이식후 CsA 치료로 인한 고혈압 환자에서 enalapril 치료가 신기능의 저하를 가져옴을 보고한 것과 상응한 결과로 생각되었다. 이미 CsA에 의해 유발된 신허혈은 신동맥 협착과 구조적, 기능적으로 유사하며 이 경우에는 국소적인 renin-angiotensin II system이 신관류에 결정적인 역할을 하게 된다. ACEI으로 인해 angiotensin II system이 억제되면 effective renal plasma flow (ERPF)에 변화를 가져오게 되는데 신허혈의 정도에 따라 ERPF가 증가하기도 하고 감소하기도 한다^{30,31)} Abu-Romeh 등²⁹⁾도 ACEI가 angiotensin II을 차단하여 GFR의 감소를 가져오게 된다고 하였고, 또 다른 이유로 angiotensin II가 혈류를 재분배함으로써 GFR을 감소 또는 증가시키는 역할이 있는데 enalapril이 이를 막음으로써 직접적인 신관류를 감소시킨다고 하였다³²⁾ 그리고 출생 후 몇 주 내의 주령이 적은 쥐의 신장의 발생 과정에서 angiotensin II의 역할의 중요성을 강조한 Friberg 등³³⁾의 연구와 상응하는 소견이라고 생각된다.

이상의 연구 결과로 부터 ACEI가 CsA 신독성을 줄여줄 수 있는 작용을 한다는 여러 연구와는 달리, 저염식으로 인해 더욱 조장될 수 있는 간접적인 신허혈 상태에서는 ACEI가 신관류를 개선하지 못하고 이로 인해 TGF- β 등이 증가됨으로써 신독성이 악화될 수 있을 것으로 생각되며 이 가설에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Mihatsch MJ, Ryffel B, Gudat F, Thiel G: Cyclosporine nephropathy. Philadelphia, JB Lippincott Co, 1989, p1555-80
2. Bagnis C, Deray G, Dubois M, Jacquiaud C, Bitker MO, Jacobs C: Prevention of acute cyclosporin nephrotoxicity by verapamil and atrial natriuretic factor in the rat. *Nephrol Dial Transplant* 9:1143-8, 1994
3. Mervaala EM, Pere AK, Lindgren L, Laakso J, Teravainen TL, Karjala K, Vapaatalo H, Ahonen J, Karppanen H: Effects of dietary sodium and magnesium on cyclosporin A-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 29:822-7, 1997
4. Li Y, Lee HB, Blaufox MD: Single-sample methods to measure GFR with technetium-99m-DTPA. *J Nucl Med* 38:1290-5, 1997
5. Bennett WM, DeMattos A, Meyer MM, Andoh T, Barry JM: Chronic cyclosporine nephropathy: the Achilles' heel of immunosuppressive therapy. *Kidney Int* 50: 1089-100, 1996
6. Burdmann EA, Andoh TF, Nast CC, Evan A, Connors BA, Coffman TM, Lindsley J, Bennett WM: Prevention of experimental cyclosporin-induced interstitial fibrosis by losartan and enalapril. *Am J Physiol* 269:F491-9, 1995
7. Pichler RH, Franceschini N, Young BA, Hugo C, Andoh TF, Burdmann EA: Pathogenesis of cyclosporine nephropathy: roles of angiotensin II and osteopontin. *J Am Soc Nephrol* 6:1186-96, 1995
8. Shihab FS, Andoh TF, Tanner AM, Noble NA, Border WA, Franceschini N, Bennett WM: Role of transforming growth factor-beta 1 in experimental chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 49:1141-51, 1996
9. Iacona A, Rossetti A, Filingeri V, Orsini D, Cesarini A, Cervelli V, Adorno D, Casciani CU: Reduced nephrotoxicity and hepatotoxicity in cyclosporin A therapy by enalapril and spiro-nolactone in rats. *Drugs Exp Clin Res* 17:501-6, 1991
10. McCulloch TA, Harper SJ, Donnelly PK, Moorhouse J, Bell PRF, Walls J, Feehally J, Furness PN: Influence of nifedipine on interstitial fibrosis in renal transplant allografts treated with cyclosporin A. *J Clin Pathol* 47:839-42, 1994
11. Gerkens JF, Branch RA: The influence of sodium status and furosemide on canine acute amphotericin B nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 214:306-11, 1980
12. Young BA, Burdmann EA, Johnson RJ, Andoh T, Bennett WM, Couser WG, Alpers CE: Cyclosporine A induced arteriopathy in a rat model of chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 48:431-8, 1995
13. Brezis M, Greenfeld Z, Shina A, Rosen S: Angiotensin II augments medullary hypoxia and predisposes to acute renal failure. *Eur J Clin Invest* 20:199-207, 1990
14. Wolf G, Neilson EG: Angiotensin II induces cellular hypertrophy in cultured murine proximal tubular cells. *Am J Physiol* 259:F768-77, 1990
15. Wolf G, Killen PD, Neilson EG: Cyclosporin A stimulates transcription and procollagen secretion in tubulointerstitial fibroblasts and proximal tubular cells. *J Am Soc Nephrol* 1:918-22, 1990
16. Elzinga LW, Rosen S, Bennett WM: Dissociation of glomerular filtration rate from tubulointerstitial fibrosis in experimental chronic cyclosporine nephrotoxicity: role of sodium intake. *J Am Soc Nephrol* 4:214-21, 1993
17. Adachi C, Kitamura K, Kato K, Yoshida M, Morisaki I, Sobue S: Cyclosporin-A induced gingival overgrowth--strain differences in the rats. *Shoni Shikagaku Zasshi* 29:24-31, 1991

18. Kim YJ, Park YH, Moon HK: Reduction of chronic cyclosporin nephrotoxicity by thromboxane synthase inhibition with OKY-046. *Kidney Blood Press Res* 20:38-43, 1997
19. 신연성, 김영옥, 김용진, 박용훈: 실험쥐에서 Cyclosporine A 신독성 경감을 위한 vitamin E 동시투여 효과. *대한이식학회* 11:11-20, 1997
20. Anarat A, Noyan A, Gonlusen G, Duman N, Tuncer D: Influence of enalapril on experimental cyclosporin A nephrotoxicity. *Pediatr Nephrol* 10:616-20, 1996
21. Bauer JH, Reams GP: Renal protective effect of long term antihypertensive therapy with enalapril. *Drugs* 35 Suppl 5:62-71, 1988
22. Fine LG: Preventing the progression of human renal disease: have rational therapeutic principles emerged? *Kidney Int* 33(1):116-28, 1988.
23. Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM: Reversing glomerular hypertension stabilizes established glomerular injury. *Kidney Int* 31:752-9, 1987.
24. Trachtman H, Gauthier B: Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy on proteinuria in children with renal disease. *J Pediatr* 112:295-8, 1988.
25. Shehata M, Cope GH, Johnson TS, Raftery AT, El Nahas AM: Cyclosporine enhances the expression of TGF- β in the juxtaglomerular cells of the rat kidney. *Kidney Int* 48:1487-96, 1995
26. Nast CC, Adler SG, Artishevsky A, Kresser CT, Ahmed K, Anderson PS: Cyclosporine induces elevated procollagen α 1(I) mRNA levels in the rat renal cortex. *Kidney Int* 39:631-8, 1991
27. Shihab FS, Bennett WM, Tanner AM, Andoh TF: Angiotensin II blockade decreases TGF- β 1 and matrix proteins in cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 52:660-73, 1997
28. Lee SK, Park JY, Yu ES, Yang SW, Kim SB, Park SK, Park JS: Individual or combined effects of enalapril and verapamil on chronic cyclosporine nephrotoxicity in rats. *J Korean Med Sci* 15:653-8, 1999
29. Abu Romeh SH, El Khatib D, Rashid A, Patel M, Osman N, Fayyad M, Scheikhoni A, Higazi AS: Comparative effects of enalapril and nifedipine on renal hemodynamics in hypertensive renal allograft recipients. *Clin Nephrol* 37:183-8, 1992
30. Textor SC, Novick AC, Tarazi RC, Klimas V, Vidt DG, Pohl M: Critical perfusion pressure for renal function in patients with bilateral atherosclerotic renal vascular disease. *Ann Intern Med* 102:308-14, 1985
31. Levenson DJ, Dzau VJ: Effects on angiotensin-converting enzyme inhibition on renal hemodynamics in renal artery stenosis. *Kidney Int* 31(suppl 20):S173-9, 1987
32. Anderson WP, Woods RL: Intrarenal effects of angiotensin II in renal artery stenosis. *Kidney Int* 41(suppl 20):S157-S67, 1987
33. Friberg P, Sundelin B, Bohman, Bobik A, Nilsson H, Wickman A, Gustafsson H, Petersen J, Adams MA: Renin-angiotensin system in neonatal rats: induction of a renal abnormality in response to ACE inhibition or angiotensin II antagonism. *Kidney Int* 45:485-92, 1994

= Abstract =

The Effect of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor on Chronic Cyclosporine Nephropathy in Salt Depleted Rats

Eun-Ju Lee, Eun-Sil Lee, Jung-Hi Hah*, Yong-Jin Kim**, Yong-Hoon Park

Department of Pediatrics, Pharmacology and Pathology**, Yangnam University, College of Medicine, Taegu, Korea*

Purpose: Cyclosporine(CsA) is a potent immunosuppressant but the use of CsA is associated with various side effects, especially nephrotoxicity. In the kidney, salt depletion activates the renin-angiotensin-aldosterone(RAS) system and accentuates chronic CsA nephropathy. We postulate that angiotensin converting enzyme inhibitors(ACEI) can prevent chronic CsA nephropathy, since ACEI may inhibit this cascade. This study was aimed to assess the effect of ACEI on chronic cyclosporin nephropathy in salt depleted rats.

Methods: 36 Fischer-344 rats were divided into 6 groups. Group I received normal salt diet(NSD). Group II received a low salt diet(LSD). Group III received CsA with a NSD. Group IV received CsA with a LSD. Group V received NSD+ CsA with ACEI. Group VI received LSD+ CsA with ACEI. Rats were sacrificed after six weeks, and the glomerular filtration rate(GFR), serum sodium, potassium and whole blood cyclosporine levels were measured. Renal tissues were sampled for the observation of histological changes.

Results: No differences in blood CsA level & serum sodium were found between groups during the course of this experiment. Serum potassium in group VI was significantly increased compared with group IV and V ($P < 0.05$). In groups treated with CsA only and in those where CsA was combined with ACEI, GFR was found to be significantly more decreased in LSD than NSD, and GFR in group V was significantly decreased in comparison with group III ($P < 0.05$). Renal histologic lesions associated with CsA, which consisted of cortical interstitial fibrosis, tubular atrophy and hyalinization of arterioles, were more severe in the LSD group. But, no differences were observed between the groups treated with CsA and ACEI, and the groups treated with only CsA.

Conclusion: Salt depletion associated with the activation of the RAS system accentuated chronic CsA nephrotoxicity, but, ACEI could not reduce the functional and morphological changes of salt depleted kidneys, in which nephropathy can be exacerbated in spite of the blocking of the angiotensin II pathway. Further studies are required to elucidate whether ACEI ameliorated the effect of salt-depleted CsA nephrotoxicity upon the effective renal blood flow.

Key words: Chronic cyclosporine nephropathy, low salt diet, angiotensin converting enzyme inhibitor